
ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

ESSAIS SUR LA PATHOGÉNIE DU CHOLÉRA

par H. VIOLLE.

La pathogénie du choléra est peut-être le point le plus obscur de cette maladie. Nous ne parlons pas, bien entendu, de la pathogénie des symptômes cholériques, mais du mode de développement du vibrion de Koch chez l'homme : pathogénie du vibrion plutôt que pathogénie du choléra.

Nous avons en vue le vibrion donnant le choléra typique, l'attaque qui apparaît brusquement et terrasse le sujet en pleine vigueur. Or, ce qui est si rapide, ce n'est pas seulement le développement des grands symptômes externes, mais aussi le développement du vibrion dans l'organisme, dont le premier n'est que le reflet bruyant. A côté du drame externe, si violent dans son évolution, que nous n'en voyons souvent que le dernier acte, se joue un drame interne, encore plus rapide et qui est le créateur de l'action.

Or, pour surprendre à ses différentes phases le développement du vibrion cholérique dans l'intestin, il est nécessaire de reproduire expérimentalement l'affection, et de se rendre maître de tous les facteurs. L'autopsie dans les cas typiques ne nous révèle que le fait un peu déconcertant de la présence d'une purée blanchâtre, sorte d'eau de riz, occupant tout le conduit intestinal, et de parois congestionnées, lie de vin ou rouge hortensia. L'expérimentation encore que positive ne nous donne pas la clef du problème ; les résultats heureux obtenus par diffé-

rents auteurs chez les animaux prouvèrent seulement que ces animaux n'étaient pas totalement réfractaires au choléra et rien de plus.

En 1894, M. Metchnikoff, s'étant attaqué à ce problème, obtint des résultats extrêmement intéressants. Il se basa sur ce fait, qui devait le conduire plus tard à sa théorie si féconde des fermentations intestinales provoquées par les microbes, que le vibron cholérique amené du milieu extérieur dans le tube digestif devait forcément, en face d'une flore très nombreuse, compter avec ses divers représentants. Il s'en suivait que pour simplifier le problème, il fallait éliminer cette flore inconnue, agir sur des intestins aussi peu septiques que possible : les conditions se trouvaient réalisées chez les animaux encore à la mamelle, par conséquent nourris seulement de lait et dont l'intestin ne renfermait qu'un nombre restreint de bactéries. Les expériences faites sur des lapins nouveau-nés furent positives ; elles démontrèrent que le vibron cholérique était bien l'agent du choléra ; elles ne démontrèrent point comment le choléra se développe chez l'homme adulte. Allant alors plus loin, M. Metchnikoff établit *in vitro* que certaines bactéries banales telles que les torula, les sarcines, quelques bacilles coliformes facilitaient le développement du vibron, et que d'autres microbes, inversement, enrayaient cette prolifération. Passant des tubes de culture à l'animal, il arriva en associant avec le vibron cholérique des espèces favorisantes à provoquer un choléra typique chez les jeunes lapins à la mamelle.

Cette théorie de microbes favorisants et empêchants, où le vibron cholérique joue sans doute le rôle principal, mais n'est pas tout dans l'étiologie du choléra, est basée sur des faits théoriques et pratiques indiscutables. Toutefois, elle explique malaisément le développement de ces épidémies foudroyantes de choléra où il est impossible, tout en admettant une virulence spéciale et temporaire de l'agent, de saisir le rôle exclusif de la flore intestinale chez chaque individu qui succombe à l'attaque.

C'est en présence de faits d'expérimentation, que nous nous sommes trouvés conduits à envisager l'hypothèse que d'autres facteurs, et principalement les sécrétions des glandes diges-

tives peuvent intervenir dans la pathogénie de la maladie cholérique.

Injectons dans les veines d'un lapin adulte (2 à 3 kilogrammes) une dose mortelle de bouillon de culture cholérique : à l'autopsie nous retrouvons le vibrion, non seulement dans le sang où il fut injecté, mais encore dans l'intestin grêle où il est passé. Or, si l'on ouvre sur toute sa longueur cet intestin grêle aussitôt après la mort et, si après l'avoir lavé rapidement, on l'examine avec soin, on verra que la muqueuse est congestionnée, et que la congestion est un peu plus prononcée à 20 ou 30 centimètres à partir du pylore, restant telle jusqu'au cæcum. Autrement dit, la première portion de l'intestin grêle est moins atteinte que les suivantes. Or, que voyons-nous à la limite des deux zones : un point en saillie, la caroncule du canal pancréatique ; tout l'intestin en aval, y compris cette caroncule et une zone aréolaire, est rouge ; en amont il est légèrement rosâtre.

Prélevons un peu de l'enduit déposé à la surface de la muqueuse, en amont et en aval du canal pancréatique, et examinons-le au microscope : nous trouvons dans les deux portions des vibrions, mais le frottis d'amont en contient extrêmement peu, et le frottis d'aval beaucoup.

Partant de ce fait, nous allons essayer de déterminer le rôle joué par les sucs digestifs dans le choléra. Aliments, microbes et sucs digestifs sont les trois substances qui forment le contenu du tube digestif. Cherchons l'effet des diastases intestinales sur le vibrion cholérique.

Pancréas. — Et d'abord le suc pancréatique. Nos expériences portèrent sur le lapin qui présente dans la série animale ce fait particulier, d'avoir le canal de Wirsung débouchant 20 à 30 centimètres plus bas que le canal cholédoque (fig. 1). Les deux sécrétions sont donc absolument séparées l'une de l'autre, et c'est en utilisant cette séparation, rappelons-le, que Claude Bernard établit ses découvertes sur la digestion pancréatique des graisses. La sécrétion pancréatique chez le lapin est continue et abondante.

Supprimons l'action du pancréas. La ligature du canal de Wirsung serait insuffisante car, quoiqu'il n'y ait pas d'autres canaux excréteurs, le suc pancréatique peut être résorbé dans

la circulation générale et modifier le résultat des expériences. La destruction de la glande sera donc faite soit par le fer rouge, soit par l'injection de suif fondu dans ses canaux. En supprimant la glande par un de ces procédés et en injectant le vibrion dans l'intestin et en aval (6, fig. 1), on n'arrive point à déterminer le choléra chez l'animal.

Même résultat négatif si l'on a injecté le vibrion en amont, c'est-à-dire entre le canal cholédoque et le canal de Wirsung (5, fig. 1).

Même résultat négatif si l'injection est faite au niveau même de l'orifice de sortie du canal pancréatique.

Maintenons l'action du pancréas. Faisons les inoculations de vibrions dans l'intestin aux trois points précédents : au lieu même de sortie du suc pancréatique, en aval et en amont : dans les trois cas résultats négatifs.

Exaltons l'action du pancréas. Pour ce faire, injectons dans les veines de l'animal et d'une façon subintrante de la sécrétine, et inoculons-lui du vibrion dans l'intestin au niveau du canal de Wirsung : résultat encore négatif.

Foie. — Portons-nous maintenant vers le foie ; la sécrétion biliaire chez le lapin est continue et très abondante, atteignant plus de 250 grammes en 24 heures (lapin moyen) : une fistule du cholédoque laisse s'écouler la bile goutte à goutte ; d'autre part, on sait que la vésicule biliaire vidée de tout son contenu est à nouveau remplie en quelques minutes (1). La mort par rétention biliaire est très variable : le canal cholédoque étant lié seul ou avec son paquet vasculo-nerveux et au niveau de son point d'aboutissement dans le duodénum (1 à 2 centimètres au-dessous du pylore), la survie est de 2 à 12 jours, chiffres extrêmes, généralement 5 à 6 jours. L'animal meurt avec tous les signes d'ictère grave (reins de couleur iodoforme, teinte ictérique de toutes les muqueuses, amaigrissement considérable, etc.). La teinte subictérique des conjonctives apparaît dès le lendemain de l'opération.

Injectons chez les lapins dont le cholédoque est lié (y compris

(1) H. VIOLLE, De la vésicule biliaire comme lieu d'inoculation. *Thèse de Doctorat ès sciences*, 1912.

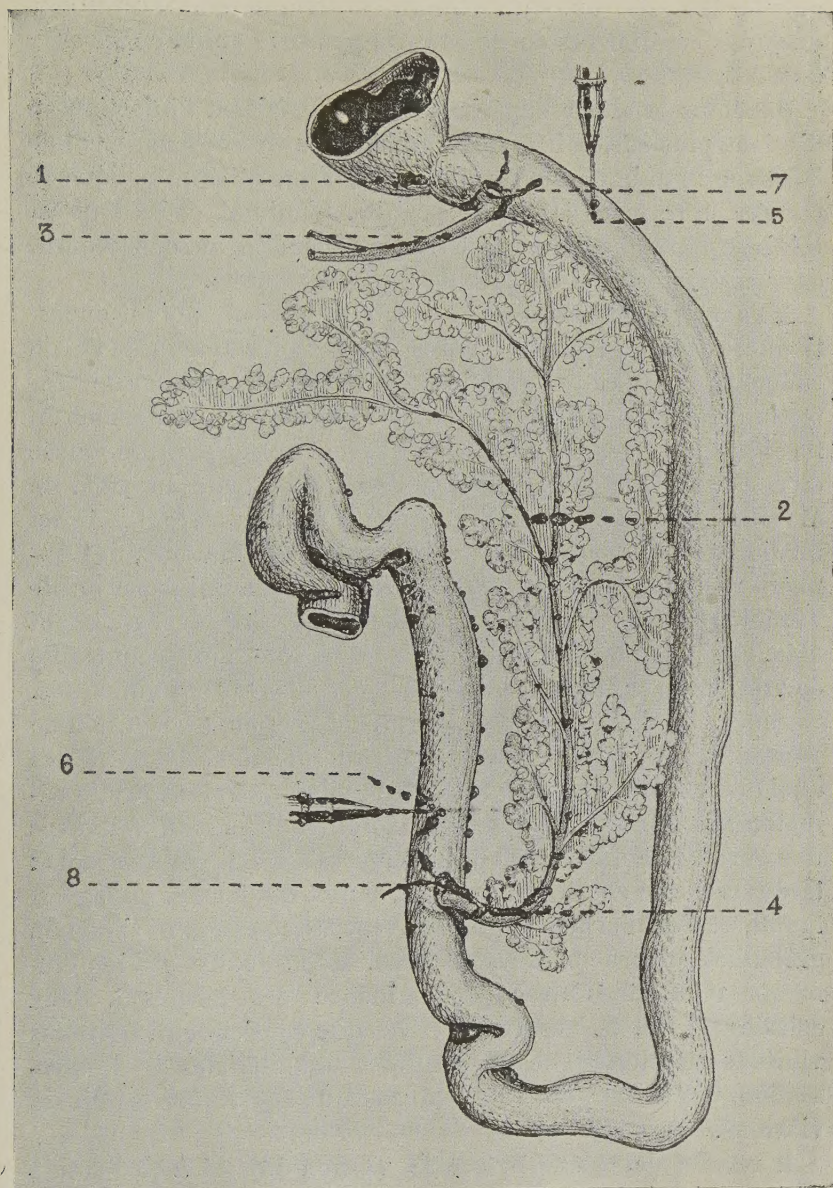


FIG. 1. — Intestin grêle de lapin (portion initiale).

1, Pylore. 2, Pancréas. 3, Canal cholédoque. 4, Canal pancréatique. 5, Injection intestinale haute ou sus-pancréatique. 6, Injection intestinale basse ou sous-pancréatique. 7, Ligature du canal cholédoque, 8, Ligature du canal pancréatique.

ou non les vaisseaux) du vibron cholérique dans l'intestin à quelques centimètres au-dessous du pylore : l'animal n'éprouve aucun trouble.

Répétons la même expérience mais en faisant l'injection de vibrions plus bas, à 1 ou 2 centimètres au-dessous du canal de Wirsung : l'animal meurt rapidement d'une attaque typique de choléra. Sur neuf cas, huit positifs. L'animal opéré l'après-midi est trouvé mort et froid le lendemain matin, ayant succombé dans certains cas en l'espace de quelques heures.

A l'autopsie, l'intestin grêle se montre plus ou moins congestionné, allant d'une coloration rosée à une coloration lie de vin ou rouge écarlate ; cette teinte intéresse toute la longueur de l'intestin grêle, y compris le cæcum, qui présente généralement un fin piqueté hémorragique ; elle est souvent un peu plus prononcée dans le voisinage du pylore et de l'orifice de sortie du canal de Wirsung. A l'intérieur de l'intestin, on trouve sur tout le trajet un liquide très abondant, blanc ou blanc jaune sale, légèrement visqueux et ressemblant à de l'eau albumineuse ou de l'eau de riz, ne présentant pas d'odeur ou une odeur légèrement fade. Examinée à l'état frais, une goutte de ce liquide fourmille de vibrions ; par place on ne voit que des formes vibronniennes. Ensemencée dans un ballon d'eau peptonée ou de bouillon de panse de porc, une goutte du contenu intestinal donne, après quelques heures, une culture pure de vibrions ayant tous les caractères du vibron d'inoculation. Examiné sur les frottis faits avec une parcelle de mucus, le vibron montre des aspects différents : tantôt la forme en virgule typique, tantôt des formes allongées, tantôt, et c'est l'aspect le plus souvent rencontré dans l'intestin grêle, des formes spiralées de deux, trois, quatre et cinq éléments vibroniens avec prédominance des formes à deux spirales (V. fig. 2). Les grains riziformes contiennent, outre les vibrions caractéristiques, des cellules endothéliales de desquamation, des leucocytes et du mucus qui agglomère les divers vibrions.

Il résulte de ces faits que le vibron injecté a déterminé l'attaque de choléra et par suite, que non seulement il n'a pas été détruit dans l'intestin, non seulement il a conservé sa vitalité, mais il s'est trouvé dans des circonstances telles qu'il s'est développé avec une rapidité extrême, provoquant en l'espace

de quelques heures une entérite très prononcée. Le vibron a remonté l'intestin grêle, pullulant en un temps très court mieux qu'en n'importe quel autre milieu artificiel, ne tenant compte dans ce développement que rien ne paraît pouvoir entraver, ni de l'alimentation de l'animal, ni de l'état de son intestin, ni du régime, ni de la température. Ici nous avons seulement modifié

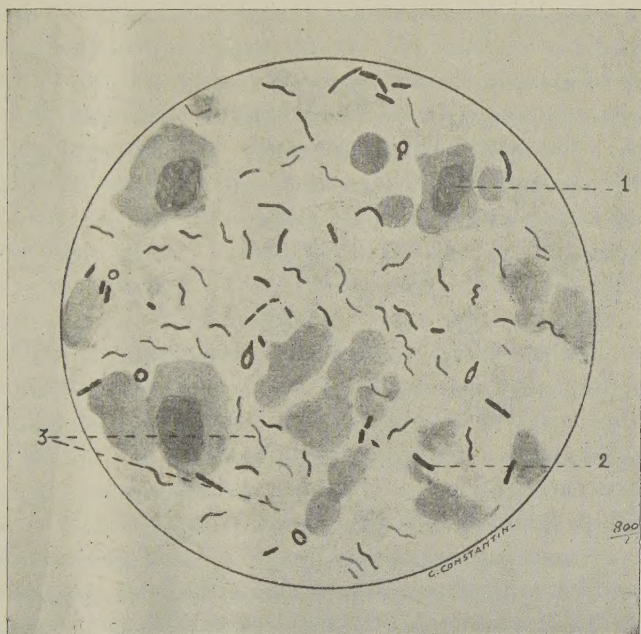


FIG. 2. — Frottis de contenu intestinal de lapin mort de choléra.

1, Cellules endothéliales. 2, Bactéries diverses. 3, Vibriens cholériques.

un facteur par la suspension de la sécrétion biliaire, et nous avons choisi le lieu d'inoculation après le canal de Wirsung.

La quantité de vibriens injectés dans ces expériences est faible : nous avons généralement employé 1 cent. cube (bouillon de vibriens cholériques de 18 heures à 37 degrés) (1) par kilogramme d'animal. Nous avons employé aussi 3 cent. cubes, 2 cent. cubes, 1/2 cent. cube, 1/4 de cent. cube par kilogramme,

(1) Vibron cholérique de l'épidémie de Marseille, 1911.

et nous avons obtenu dans tous ces différents cas des résultats positifs. Le jour suivant l'inoculation, le vibrion avait transformé tout le contenu intestinal représentant plus de 20 cent. cubes en une bouillie blanchâtre remplie des produits de sa pullulation.

L'examen des autres organes ne présente point grand intérêt. La vessie est vide, la cavité péritonéale renferme généralement un peu de liquide, résultat de la réaction opératoire; le cœur et les poumons sont normaux; les reins et la rate ne présentent aucune altération sensible; le foie est un peu congestionné, mais la vésicule biliaire est de volume normal indiquant par ce fait que malgré la ligature du canal cholédoque, la bile ne s'est pas accumulée: la sécrétion a été vraisemblablement vite tarie sous le développement intensif du vibrion et la résorption consécutive et rapide de la toxine, dont un des principaux effets est de provoquer l'acholie (selles généralement décolorées).

Le mode opératoire: ligature du cholédoque et inoculation intestinale basse présente évidemment quelques difficultés.

Pour ce qui est de l'inoculation intestinale, il est évident que la méthode pratique serait de faire ingérer le vibrion *per os*; mais avec le lapin comme animal d'expérience, nous avons vu que le problème était théoriquement irréalisable, puisque le choléra ne peut se développer dans l'intestin qu'au-dessous du canal de Wirsung. Nous avons cherché à user d'artifices tels que le vibrion soit déposé en ce lieu récepteur, et saute toute la zone négative, soit par des ingestions en quantité massives de vibrions permettant à quelques-uns d'entre eux de gagner la zone positive, soit par leur introduction dans des capsules de gluten et leur libération par le suc pancréatique; mais ces deux procédés sont incertains. Il nous semble préférable de renoncer au lapin comme animal d'expérience courante, par les raisons mêmes qui le rendent très intéressant pour déterminer les grandes lignes de la pathogénie de la maladie asiatique.

En ce qui concerne la ligature du cholédoque, il y aurait évidemment tout intérêt pour simplifier l'opération, à injecter sous la peau ou dans les veines, une substance qui arrêât pendant quelques heures la sécrétion biliaire.

Mais le physiologiste n'a à sa disposition aucun corps capable d'arrêter électivement, longuement et avec inocuité la sécrétion biliaire. Il semble que le foie qui joue un rôle défensif si prononcé dans l'organisme soit précisément en dehors de l'atteinte des corps qu'il a charge d'éliminer. S'il vient à faillir à cette fonction, l'organisme succombe. Et de fait dans le département des toxines, nous trouvons une substance ayant un pouvoir électif sur la suppression de la sécrétion biliaire : c'est précisément la toxine cholérique.

Injectons dans les veines d'un lapin, de la toxine cholérique (1) mais à une dose bien inférieure à la dose mortelle; inoculons ensuite du vibron dans l'intestin au lieu d'élection, c'est-à-dire après le canal de Wirsung : l'animal meurt d'attaque cholériforme typique analogue à celle provoquée par la ligature du cholédoque.

Nous nous trouvons donc en face de ce fait un peu paradoxal d'une affection dont l'évolution est provoquée par elle-même. Il en est du choléra comme de la fièvre qui crée la fièvre, ou de la bile qui fait sécréter la bile.

On peut entrevoir ainsi le cycle vibronien dans l'intestin : des vibrions ont été ingérés par l'organisme et ont gagné la portion subpancréatique de l'intestin grêle; grâce au ralentissement ou à l'arrêt même momentané de la sécrétion biliaire, le vibron se développe activement; il élabore de la toxine qui résorbée par la circulation arrive au contact du tissu hépatique et là, suspend la sécrétion biliaire. Le vibron peut alors se développer en toute sécurité, descendant l'intestin grêle favorable à son développement et maintenant amorcé, le remontant d'autre part jusqu'au pylore, n'y trouvant plus d'obstacle.

Ceci explique le développement intense et rapide du vibron dans l'intestin, maintenu continuellement à l'écart tant que dure la persistance d'une bonne sécrétion biliaire, et déterminant le choléra foudroyant, tant sont favorables les conditions dans le milieu chaud, humide, alcalin et peptonisé de l'intestin, lorsque la sécrétion hépatique vient à être modifiée.

Ceci tend à montrer la différence des phénomènes *in vivo* et *in vitro*.

(1) Cf. SALIMBENI, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1908.

La bile *in vitro* est pour le vibrion cholérique un bon milieu de culture, quoique à l'état pur il soit manifestement inférieur à ceux que l'on emploie dans les laboratoires (eau peptonée, milieu de panse, etc.).

Le suc pancréatique pur alcalin *in vitro* permet également le développement des vibrions cholériques.

Nous ignorons l'action de ces sucs sur le vibrion, *in vivo*, leur action complète sur les terminaisons nerveuses, sur les cellules et les glandes de la muqueuse intestinale, sur les vaisseaux qui entourent la muqueuse, sur le contenu intestinal, aliments, autres diastases et flore microbienne. On a seulement déterminé le rôle des diastases vis-à-vis du vibrion en se basant sur leur caractère de réaction acide ou alcaline.

Mais nos résultats expérimentaux restent : chez l'être vivant, la suppression d'une des diastases, la bile, la conservation de l'autre, le suc pancréatique agissent favorablement sur le développement du vibrion. Dans l'intestin grêle, là où l'action biliaire est épuisée ou neutralisée, là où l'action pancréatique est à son optimum, en ce point d'élection est le berceau du choléra.

Chez le chien et le singe dont les voies biliaires et pancréatiques affectent une disposition très analogue à celle de l'homme, on déterminera l'attaque cholérique par la ligature du cholédoque et l'injection des vibrions un peu bas dans le duodénum.

Il s'ensuit que la réceptivité d'un organisme au choléra sera la conséquence, non pas de la composition humorale ou tissulaire de cet organisme, mais plus volontiers de la disposition anatomique de ses glandes digestives et de leur particularité de sécrétion.

Nous disons « réceptivité » et non « sensibilité », car d'après les expériences précédentes il paraît évident que tous les sujets et tous les animaux de laboratoire sont également sensibles. La « réceptivité » c'est-à-dire l'imperfection des barrières naturelles qu'offre l'organisme, conséquence des dispositions anatomiques ou de formations physiologiques différentes varient seules : nous avons donné à un jeune fox-terrier de 3 kilogrammes et par ingestion, jusqu'à un litre de bouillon de vibrions cholériques en l'espace de 48 heures : il n'en éprouva aucun malaise ; le

même bouillon inoculé à la dose de 1 cent. cube dans le duodénum, après ligature du cholédoque, tue l'animal.

Il est plausible d'admettre d'après cela que l'animal qui présentera cette double caractéristique : 1° d'avoir les canaux sécréteurs de la bile et du suc pancréatique très haut dans le tube digestif ; 2° d'avoir une sécrétion biliaire discontinue, se présentera dans les conditions les plus favorables pour permettre la culture des vibrions cholériques. De telles conditions se trouvent réalisées chez l'homme dont l'organisme est, on le sait, de beaucoup le plus réceptif aux vibrions cholériques.

En effet, la sécrétion biliaire chez l'homme est rémittente, avec exagération au moment de la digestion. Mais la bile qui est sécrétée en dehors de la digestion s'accumule dans la vésicule, d'où elle est excrétée lorsque le contenu acide de l'estomac vient toucher l'orifice du canal cholédoque, tandis que l'attouchement avec un liquide alcalin est presque sans effet. Il y aura donc deux périodes dans l'organisme : l'une de sécrétion abondante, l'autre de repos, périodes ayant leur retentissement sur le développement du vibron.

Il en résulte que tout ce qui provoque un trouble intestinal (1) avec retentissement hépatique, tout ce qui surchargera le foie, entravant son bon fonctionnement ou neutralisant sa bile, facilitera la culture du vibron de Koch et par suite favorisera l'éclosion du choléra.

Les nombreuses expériences que nous avons faites sur les lapins, sur les chiens et précédemment sur les singes, les constatations faites chez l'homme conduisent également à cette conclusion :

Le vibron cholérique ne se développe primitivement que dans une zone déterminée de l'intestin que nous avons appelée « zone sensible ».

Il ne se développe que si cette zone est indemne de tout suc biliaire.

Une des défenses naturelles de l'organisme humain contre le choléra résidera donc dans le jeu intégral des sécrétions du foie.

(1) H. POTTEVIN et H. VIOLLE, Choléra expérimental chez le Singe. *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, 1913.

Résumé des expériences d'inoculation du vibron cholérique chez le lapin.

ACTION SUR LES VOIES BILIAIRES	ACTION SUR LE PANCRÉAS	LIEU D'INJECTION DU VIBRION CHOLÉRIQUE	RÉSULTATS
1. Ligature du canal cholédoque.	1 à 2 cent. en aval du canal de Wirsung.	† † † † † † † † —
2. Ligature du canal cholédoque.	1 à 2 cent. après le canal cholédoque.	† † † † † † † †
3. Ligature du canal cholédoque.	† † † † † † † †
4.	Au niveau du canal de Wirsung.	— — — — —
5.	30 cent. en aval du canal de Wirsung.	† — — — —
6.	Dans le canal de Wirsung.	† — — — —
7.	Avant et après le canal de Wirsung.	— — — — —
8.	Entre le choléd. et le can. de Wirsung.	† — — — —
9.	20 cent. en aval du canal de Wirsung.	— — — — —
10.	— — — — —
11. Ligature du cholédoque	1 à 2 cent. en aval du can. de Wirsung.	† † — — —
12. Ligature du canal cholédoque.	1 à 2 cent. en aval du can. de Wirsung.	† † — — —
13. Inj. de tox. dans chol. et veines.	1 à 2 cent. en aval du can. de Wirsung.	† † — — —
14. Inject. de tox. d. cholédoque.	1 à 2 cent. en aval du can. de Wirsung.	— — — — —
15. Injection de tox. dans les veines.	1 à 2 cent. en aval du canal de Wirsung.	† — — — —
16.	Inject. de sécrétine dans les veines.	— — — — —
17. Vidange de la vésic. biliaire.	1 à 2 cent. en aval du can. de Wirsung.	— — — — —
	En amont et en aval du c. de Wirsung.	— — — — —

† Mort de choléra. + Mort d'une affection autre que le choléra. — Vivant.

RECHERCHES COMPLÉMENTAIRES
SUR LA
CONTAGION TUBERCULEUSE AUPRÈS DU MALADE,
ET EN DEHORS DE L'HABITATION

par P. CHAUSSÉ.

(TROISIÈME MÉMOIRE)

Les diverses méthodes d'investigation que nous avons employées jusqu'ici nous conduisent à admettre que la contagion tuberculeuse s'effectue exclusivement, ou presque exclusivement, par les particules sèches; voici, du reste, en quelques mots, quelles ont été nos principales constatations :

1° La vitalité du bacille tuberculeux est suffisante, dans les conditions de l'appartement, pour permettre la transmission de la tuberculose par les crachats desséchés (1);

2° Le brossage d'habits souillés nous a permis de communiquer la maladie au cobaye, avec la plus grande facilité (2);

3° La simple agitation de linges bacillaires mobilise également une quantité importante de particules sèches respirables et virulentes (3);

4° La salive et les crachats tuberculeux sont très difficilement pulvérisables par les courants aériens (Conclusion de notre premier mémoire, ces *Annales*, 25 juin 1914);

5° Le tuberculeux ne projette que très exceptionnellement des particules liquides d'origine buccale, relativement volumineuses, qui tombent à une faible distance et ne sont pas respirables (Conclusion de notre second mémoire; 25 juillet, 1914);

6° L'inhalation directe, par le cobaye, de l'air expiré par le tuberculeux au moment de la toux, ne communique pas la tuberculose (Conclusion de notre second mémoire).

(1) *Revue de la tuberculose*, 5 octobre 1913.

(2) *Bull. Acad. de médecine*, 13 mai 1913, et *Revue d'hygiène*, 20 mai 1913.

(3) *Bull. Acad. de médecine*, 22 juillet 1913, et *Revue d'hygiène*, 20 octobre 1913.

Toutes nos recherches tendent donc à réfuter la thèse de la contagion par les gouttelettes, tandis que simultanément elles confirment la conception de la transmission par les poussières.

Pour terminer notre travail d'ensemble relatif à la contagion tuberculeuse, il nous reste à publier quelques expériences faites auprès du malade. Diverses questions restent encore en suspens : 1° quelle est l'importance du danger ? Nous l'apprécierons par le résultat d'épreuves de cohabitation de cobayes avec des phtisiques atteints de tuberculose dite ouverte ; 2° quelle est l'origine principale de ce danger ? Nous essaierons de nous en rendre compte par plusieurs méthodes.

ÉPREUVES DE COHABITATION DE COBAYES AVEC LES MALADES

Notre très honoré maître, M. le professeur Letulle, chef de service à l'hôpital Boucicaut, a bien voulu nous permettre de poursuivre cette partie de nos recherches dans les salles de tuberculeux confiés à ses soins ; ces recherches n'auraient pu être exécutées en l'absence des encouragements de ce maître si dévoué au progrès scientifique ; nous lui exprimons notre bien vive reconnaissance pour la bonté inoubliable dont il a fait preuve à notre égard.

Conditions hygiéniques des salles de tuberculeux à l'hôpital Boucicaut. — L'hôpital Boucicaut est, comme on le sait, de construction moderne. Le pavillon des tuberculeux est séparé en deux moitiés, l'une pour chaque sexe ; et chacune de ces parties comprend elle-même une salle commune de 30 à 40 lits, et plusieurs petites salles d'isolement de 1 ou 2 lits.

Les conditions hygiéniques sont les mêmes dans la salle commune et dans les petites salles : éclairage parfait, aération abondante ; le sol, carrelé au grès cérame, est lavé tous les matins ; la literie, d'un modèle unique et très simple, est d'un nettoyage facile.

La salle commune des hommes est d'une capacité de 1.404 mètres cubes ; elle contient généralement 32 malades, ce qui représente un volume d'air de 34 mètres cubes par malade ; mais, en réalité, la quantité d'air de chacun est bien

supérieure à ce chiffre parce que, sur l'un des côtés de la pièce, les fenêtres sont continuellement ouvertes.

Il y a deux rangées de lits, deux latérales et deux centrales, dans le sens de la longueur (voir photographie et figure schématique).

En dehors de l'usage du crachoir il n'est pas pris de précautions spéciales à l'égard des expectorations. Le récipient qui reçoit ces produits contient une certaine quantité d'acide phénique; il est changé aussi souvent que cela est nécessaire, mais au moins tous les matins.

Les malades possèdent un mouchoir qu'ils utilisent pour s'essuyer les lèvres et qu'ils déposent sous l'oreiller ou le traversin; ce mouchoir leur appartient souvent en propre; ils le lavent eux-mêmes ou le donnent à laver dans leur famille. Nous démontrerons plus loin qu'il y a là une cause importante de dissémination de poussières virulentes sèches, bien que cette dissémination ait été niée par Sticher, puis Beninde, élèves de Flügge. Ajoutons à cela que, forcément, pendant la toux, il y a projection de quelques grosses gouttelettes sur le linge du malade ou sur le lit.

Néanmoins, les soins quotidiens de propreté dont les salles sont l'objet, le changement assez fréquent du linge (toutes les semaines), la récolte et la destruction des expectorations, la perte de la virulence des crachats en 10 à 20 jours lorsqu'ils sont desséchés, nous paraissent devoir éliminer presque entièrement le danger de transmission par les poussières.

Exp. I (salle commune). — Nous nous sommes d'abord rendu compte de l'état bacillaire général en examinant les crachats de tous les malades; voici quelques-unes des teneurs de ces crachats en bacilles, rapportées au milligramme de produit humide :

1.000	26.000	47.000	98.000
8.000	32.000	52.000	104.000
10.000	33.000	65.000	110.000
12.000	35.000	80.000	125.000
14.000	42.000	90.000	135.000
16.000	45.060	95.000	160.000

Les malades étaient placés dans la salle, sans affectation particulière pour les plus riches ou les moins riches en bacilles. Au cours de l'expérience plusieurs malades sont décédés; d'autres ont été admis, et l'état bacillaire général n'a pas varié d'une manière appréciable.

Notre expérience a consisté à laisser séjourner pendant 34 jours, dans cette salle, de façon permanente, une cage contenant 13 cobayes. Cette cage était

déposée au milieu de la pièce, sur une table haute de 1 mètre. A côté de la table portant les cobayes, était un malade dont les mucosités étaient des plus riches en bacilles (125.000), et qui toussait énormément.

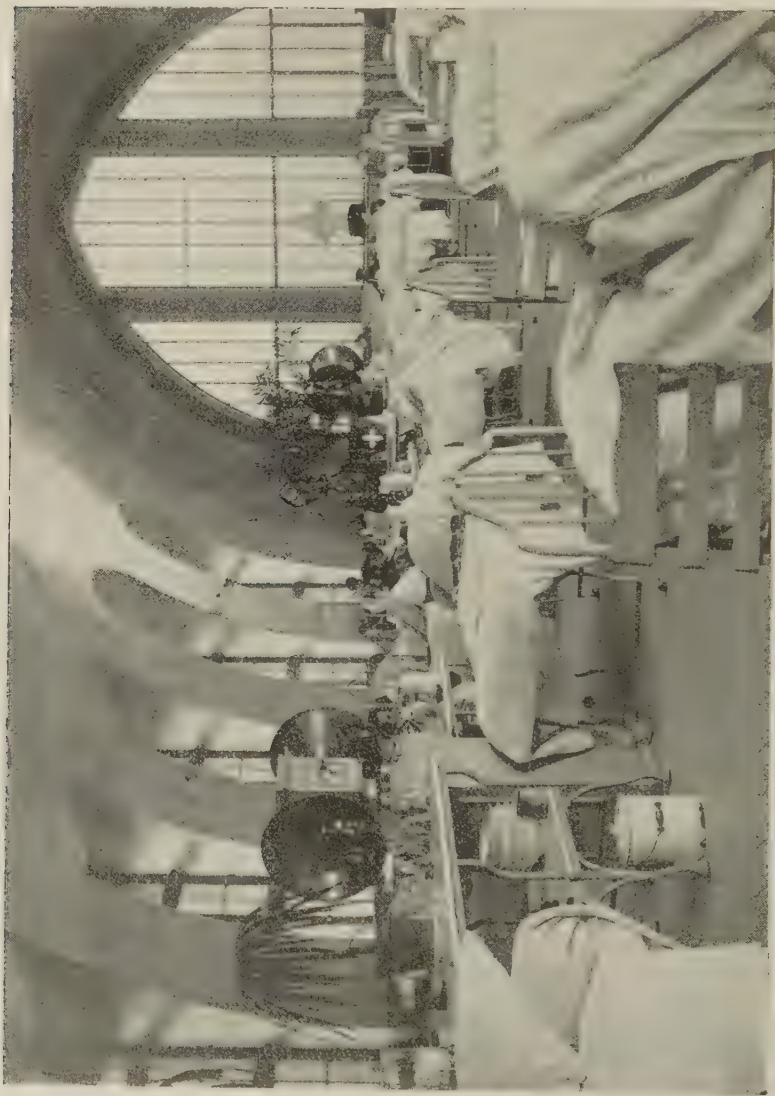


FIG. 1. — La salle commune des tuberculeux hommes à l'hôpital Boucicaut; au centre, une croix blanche indique la table sur laquelle ont séjourné les cobayes.

Pendant toute la durée de leur séjour, commencé le 11 juillet 1912 et terminé le 14 août suivant, les animaux sont restés en bonne santé apparente. Après la fin de l'expérience, ils ont été conservés un certain temps afin que les tubercules ayant pu être contractés pendant les derniers jours de la

cohabitation aient le temps de se développer. Il faut environ 18 jours pour que des tubercules d'inhalation commencent à être visibles à l'œil nu ; pour plus de certitude, à part trois sujets qui sont morts d'affection intercurrente, les autres ont été sacrifiés 35 jours après leur sortie de l'hôpital.

Les trois premiers sujets sont morts les 18 et 19 août, soit 38 et 39 jours après le début de l'expérience ; ils étaient sains en apparence ; leurs poumons ont été prélevés aseptiquement, broyés et inoculés sous la peau de deux cobayes neufs pour chacun ; ces derniers animaux sont restés sains.

Les 10 autres cobayes ont été sacrifiés le 18 septembre, c'est-à-dire 69 ou 35 jours après le début ou la fin de l'expérience ; ils étaient tous parfaitement sains et en bon état général.

Après ce délai de 35 jours, l'inoculation du poumon était inutile, puisque tout bacille isolé et virulent, arrivé dans le poumon, aurait déjà produit un tubercule caséeux avec adénopathie, correspondante et que, de plus, la généralisation aurait été apparente.

Le résultat de cette première expérience est donc entièrement négatif.

Exp. II (salle de deux lits). — Nous avons fait, parallèlement à la précédente, une autre expérience qui fut commencée le même jour, et terminée de même, dans une salle de deux lits.

Dans cette chambre d'une capacité de 60 mètres cubes, étaient deux malades. L'un de ces malades, présentant environ 120.000 bacilles par milligramme de crachats, restait continuellement alité ; l'autre, ayant 50.000 bacilles par milligramme, se levait une partie du jour.

En présence de ces deux malades, nous avons placé deux cages contenant chacune 7 cobayes ; chaque cage était posée sur une table de 80 centimètres de hauteur, près du lit, et à une distance de 80 centimètres ou de 1 mètre de la bouche du malade, selon la position prise par celui-ci (voir figure 3).

Dans cette pièce, la baie était toujours ouverte ou entr'ouverte ; de plus, la porte donnant dans le couloir était fréquemment ouverte jour et nuit, ce qui assurait une ventilation importante.

Vers le milieu de l'expérience, le 27 juillet, le malade le plus riche en bacilles, occupant le lit n° 23, mourut d'hémoptysie. Nous fîmes venir alors dans la chambre deux autres malades possédant respectivement 75.000 et

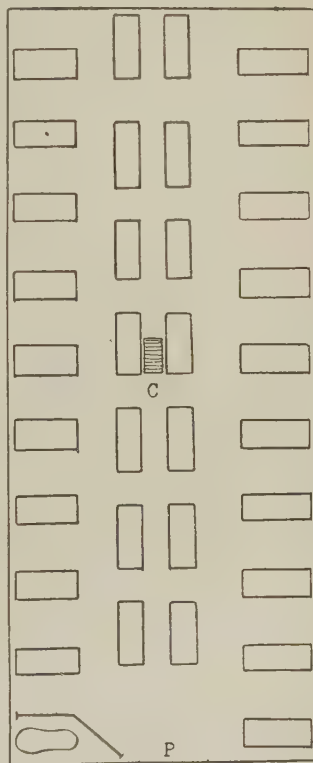


FIG. 2. — Plan schématique de la salle commune des tuberculeux hommes, à l'hôpital Boucicaut.

Chaque rectangle représente un lit. — C, la cage à cobayes placée au centre de la salle, sur une table, entre deux lits ; P, porte d'entrée dans la salle.

135.000 bacilles par milligramme de mucosités et qui restaient constamment alités. L'expérience se poursuivait dans les mêmes conditions que précédemment, cette fois jusqu'à la fin, c'est-à-dire jusqu'au 14 août inclusivement. Ces deux derniers malades sont décédés peu de temps après, l'un le 30 août, l'autre le 6 septembre.

Deux cobayes ont péri les 2 et 4 septembre, c'est-à-dire 19 et 21 jours après la fin de l'expérience; ils étaient en apparence indemnes de tuberculose; leurs poumons furent inoculés à quatre cobayes, avec résultat négatif.

Les 12 cobayes restants furent sacrifiés le 18 septembre, soit 69 et 35 jours après le début ou la fin de l'expérience. Sur ce nombre, 11 étaient parfaite-

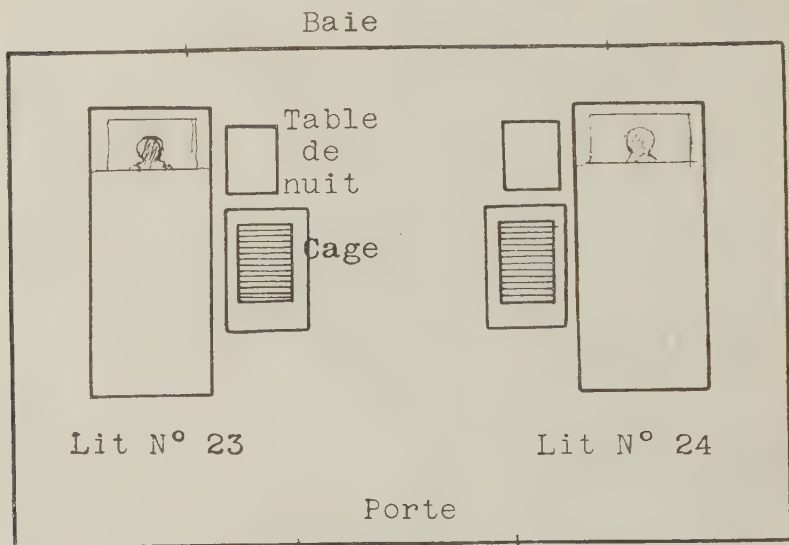


FIG. 3. — Plan schématique d'une petite chambre de deux lits à l'hôpital Boucicaut.

On voit les deux cages, contenant chacune 7 cobayes, placées à 80 cent. cubes ou 1 mètre de la tête du malade, chacune sur une table.

(Exp. II. — Echelle : environ 1/50.)

ment sains; un seul présentait un *tubercule pulmonaire caséux avec adéno-pathie correspondante* très marquée et des lésions de généralisation récente; les ganglions cervicaux et mésentériques de cet animal étaient normaux. Il s'agissait donc d'une *tuberculose d'inhalation pure*, remontant à 40 jours environ, c'est-à-dire que cet animal avait été infecté quelques jours avant la fin de la cohabitation.

Exp. III (chambre de deux lits). — Cette expérience a été faite pendant l'hiver 1912-1913, dans une chambre contenant deux malades à la troisième période, avec expectorations riches en bacilles : 1° Cr..., trente-quatre ans, atteint de laryngite tuberculeuse depuis 2 mois et demi; 71.000 bacilles par milligramme de crachats; 2° Hag..., vingt ans, également atteint de laryngite; 63.500 bacilles par milligramme de crachats. Tous les deux expectorent abondamment.

Deux cages contenant chacune 8 cobayes sont posées sur le sol carrelé, entre les deux lits, à 2 mètres ou 2^m50 de la tête des malades (voir figure 4 ci-dessous).

L'expérience, commencée le 5 décembre 1912, à 10 heures du matin, est terminée le 4 janvier 1913, à la même heure, soit exactement 30 jours après. Le séjour des cobayes dans la chambre est continu.

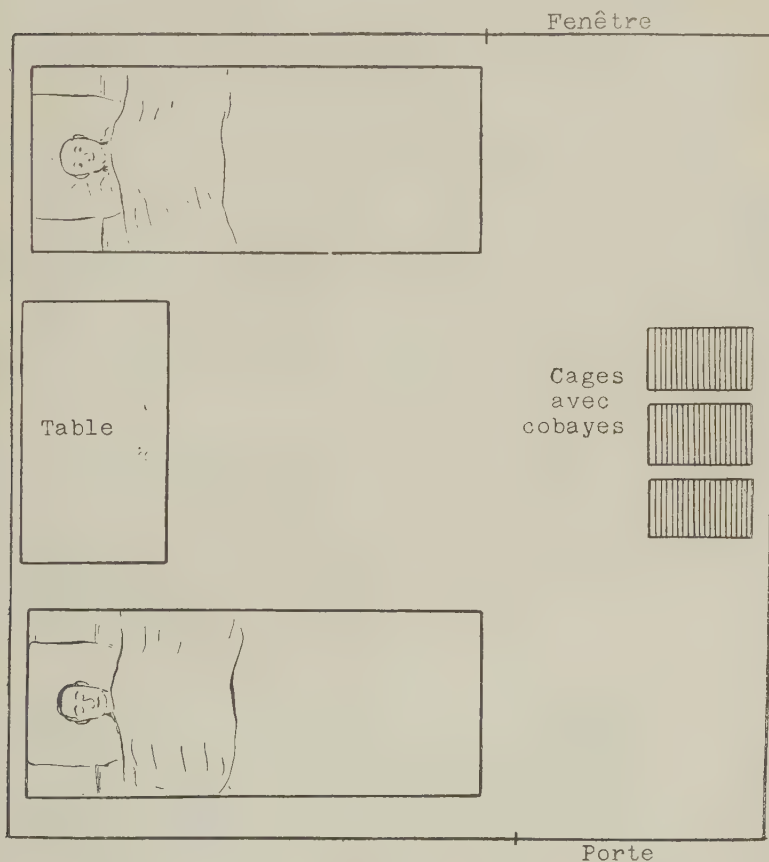


FIG. 4. — Plan schématique d'une chambre de deux lits, de 41 mètres cubes, utilisée dans les expériences III, IV et V. (Echelle : 1/25 environ.)

Il convient de noter que, pendant la saison d'hiver, la porte de la chambre est fermée; la fenêtre, ouverte le jour, est presque entièrement fermée la nuit. La ventilation est donc beaucoup moins abondante que pendant l'été; il en résulte que les conditions sont certainement plus favorables à la contagion.

Deux cobayes périssent les 3 et 7 février suivants; ils sont tuberculeux avec chacun un nodule primitif caséeux, de fortes adénopathies et des lésions

de généralisation. L'infection remonte environ à 45 jours pour l'un et à 50 ou 60 jours pour l'autre.

Les 14 autres cobayes sont sacrifiés le 8 février, soit 65 ou 35 jours après le début ou la fin de l'expérience; *sur ce nombre 8 sont tuberculeux avec des lésions de type respiratoire, comme les précédents, et remontant à 35-50 jours environ.*

En résumé, sur 16 cobayes ayant cohabité avec les deux malades, il y a 10 tuberculeux. Pour l'un de ces animaux il y a doute quant au mode d'infection, bien qu'il s'agisse vraisemblablement de tuberculose d'inhalation; mais, pour 9, nous sommes en présence de *tuberculose d'inhalation pure*.

Exp. IV (chambre de deux lits). — Cette expérience est exécutée en même temps que la précédente, dans une chambre contiguë semblable, les autres conditions étant les mêmes. Les deux malades occupant cette chambre étaient à la même période de la maladie que les précédents : 1° Leg..., vingt-cinq ans, laryngite tuberculeuse, 35.000 bacilles par milligramme de crachats; 2° Sig..., trente-cinq ans, laryngite tuberculeuse, 62.000 bacilles par milligramme de crachats.

Un cobaye périt le 27^e jour : il est sain. Les 13 autres, retirés le 4 janvier de l'hôpital, sont sacrifiés le 8 février suivant, c'est-à-dire, comme précédemment, 65 ou 35 jours après le début ou la fin de la cohabitation. Sur ce nombre, 4 *sont tuberculeux avec des lésions de type respiratoire* remontant à 35, 40, 45 et 60 jours environ.

Les deux malades dont il s'agit sont décédés quelques semaines après : ils présentaient à l'autopsie des lésions thoraciques prononcées et des ulcères laryngiens.

Exp. V (chambre de deux lits). — Exécutée dans les deux chambres précédentes que les malades occupaient alternativement, pour une raison qui sera indiquée plus loin, cette expérience a eu lieu du 26 février au 5 avril 1913; les conditions d'aération et autres sont les mêmes que précédemment.

Les malades ayant séjourné dans la chambre avec les cobayes sont : 1° Cr..., du 26 février au 4 mars; 71.000 bacilles par milligramme de crachats; c'est l'un des malades de l'expérience précédente;

2° Leg..., du 26 février au 3 avril; 35.000 bacilles par milligramme; a également servi pour l'expérience IV;

3° Dum..., du 6 mars au 5 avril, en remplacement de Cr...; ce malade a environ 50.000 bacilles par milligramme et il est atteint de tuberculose du larynx.

19 cobayes ont cohabité avec ces malades du 26 février au 5 avril, soit pendant 38 jours consécutifs.

L'un des cobayes périt le 7 avril, soit 41-2 jours après le début ou la fin de l'expérience; *il n'est pas tuberculeux*.

Un second cobaye périt le 18 avril (52-13 jours); *il a 2 tubercules pulmonaires primitifs* et l'infection date de 45 à 50 jours.

Un troisième cobaye est sacrifié le 26 avril (60-21 jours); *il a un tubercule pulmonaire primitif* et l'infection remonte à 45 jours environ.

Les 16 autres cobayes sont sacrifiés le 8 mai, soit 72 ou 33 jours après le début ou la fin de l'expérience; 13 *sont tuberculeux avec 1 à 3 tubercules pulmonaires primitifs; tous ont des lésions d'inhalation pure*; les ganglions pha-

ryngiens et intestinaux sont indemnes : l'ancienneté de l'infection correspond bien à leur séjour à l'hôpital.

Au total, sur 19 cobayes il y a 15 tuberculeux infectés par inhalation.

En résumé, les expériences de cohabitation avec le malade nous ont donné :

Exp. I, sur 13 cobayes exposés.	0 tuberculeux.
Exp. II, sur 14 cobayes exposés.	1 tuberculeux.
Exp. III, sur 16 cobayes exposés.	10 tuberculeux.
Exp. IV, sur 14 cobayes exposés.	4 tuberculeux.
Exp. V, sur 19 cobayes exposés.	15 tuberculeux.
Totaux.	30
	76

Les expériences I et II semblent avoir été moins inquiétantes, dans leurs résultats, pour l'unique raison qu'elles ont eu lieu en été, saison pendant laquelle l'aération est plus grande, le virus suspendu en l'air est dilué, chassé en grande partie à l'extérieur, et conséquemment le danger de transmission par inhalation est considérablement diminué; nous dirons même que ce danger n'est pas alors ce qu'il est réellement au domicile du tuberculeux où l'aération est en général beaucoup moindre. Ce sont donc vraiment les trois dernières expériences qui nous renseignent le plus exactement sur les chances d'infection qui se rencontrent communément dans la cohabitation avec le malade.

Quoi qu'il en soit, en totalisant nos résultats, nous trouvons que 30 cobayes sur 76, soit 39,47 p. 100, ont été infectés après environ un mois de cohabitation! Nous devons considérer enfin que l'homme inhale, dans les mêmes conditions, 100 fois plus d'air et de bacilles que nos animaux d'expérience; d'où il résulte qu'un être humain ne peut cohabiter avec un phtisique ainsi entretenu, *sans réaliser environ un tubercule pulmonaire chaque jour!* Il est bien entendu que l'évolution de cette lésion théorique est subordonnée à d'autres conditions. Nous n'avons pas moins là l'explication de la proportion considérable des tuberculoses latentes, et aussi celle des tuberculoses cliniquement caractérisées et mortelles.

Ces épreuves de cohabitation ont un autre intérêt au point de vue pathogénique : depuis plusieurs années, nous défendons cette thèse que la phtisie humaine « se respire », tout comme

la maladie bovine, et même davantage, et qu'elle « s'avale » exceptionnellement. Nous venons d'en avoir une nouvelle démonstration : sur 30 cobayes infectés, à part un dont les lésions étaient douteuses, mais vraisemblablement d'origine respiratoire, 29 présentaient incontestablement de la *tuberculose d'inhalation pure, telle que nous la réalisons expérimentalement à volonté, avec des doses infimes de virus naturel.*

Il n'est pas nécessaire d'insister davantage sur l'interprétation qui doit être faite de ces épreuves de cohabitation.

VIRULENCE DES POUSSIÈRES DES CHAMBRES RECHERCHÉE PAR INOCULATION

Ayant constaté l'infection des cobayes par cohabitation avec nos malades, il était indiqué de se rendre compte si les poussières, recueillies en divers points des salles de tuberculeux, étaient virulentes. Sachant aussi que la virulence par inoculation sous-cutanée est la plus facile à mettre en évidence, nous avons voulu d'abord faire une série d'épreuves par ce moyen.

Pour récolter les poussières nous avons employé des boîtes de Petri stériles; nous déposons dans ces boîtes environ 20 cent. cubes d'eau bouillie destinée à fixer les poussières et à empêcher l'atténuation du bacille de se continuer après son dépôt; nous savons, en effet, par nos recherches sur la vitalité, que la destruction du virus est assez rapide, et que cette destruction est surtout l'œuvre de la déshydratation.

Toutes nos récoltes de poussières ont été faites dans une des chambres de deux lits, occupée par deux phtisiques à la période cavitaires; en réalité, au cours de ces recherches, trois malades ont habité dans la pièce, car, l'un des premiers (Dum...) étant décédé, nous le fîmes remplacer par un autre dans le même état clinique.

Les récipients destinés à recevoir les poussières ont été placés en trois points différents : 1° sur la table, entre les deux lits, dans un cristalliseur découvert, pour éviter des contacts manuels directs; 2° sous les lits, également dans un cristalliseur; 3° sur le mur, près de la tête des malades, mais à 80 centimètres au-dessus (voir figure 5 ci-contre), la boîte

de Petri étant déposée, en outre, dans une cuvette photographique.



FIG. 3. — Dispositif employé pour recueillir les poussières dans une chambre de deux lits.

Sur le mur est suspendue une cuvette contenant une boîte de Petri à moitié remplie d'eau stérilisée au préalable.

Pour les récipients placés sous les lits, et pour ceux fixés au-dessus de la tête des malades, la projection directe était évitée à coup sûr; mais, pour ceux ayant séjourné sur la table, cette projection restait possible.

Les boîtes de Petri, devant récolter la poussière, sont restées généralement 4 jours dans la chambre; pendant tout ce temps, elles ont donc pu recevoir les particules mobilisées par les mouvements du malade, les courants d'air, la réfection des lits. Au bout de 24 heures, on constatait toujours, quel que fût l'endroit occupé par le récipient, que la surface du liquide se recouvrait de filaments blancs très fins provenant des linges, et vraisemblablement surtout des draps. Ces filaments étaient donc assez légers pour être portés très au-dessus des malades, et, sans aucun doute, dans toutes les parties de l'appartement.

Après les 4 jours de stationnement indiqué, dans le local, le liquide fut récolté avec les précautions d'asepsie nécessaires; il contenait à ce moment un grand nombre de filaments, si bien que, pour l'homogénéiser, nous dûmes le brasser dans un mortier stérile; la plus grande partie des filaments s'agglutinaient alors, mais la libération des bacilles avait chance d'être plus complète. Pour chaque récipient, le liquide obtenu servit à l'inoculation de 3 cobayes.

Dix-huit échantillons de poussières ont été ainsi recueillis, dont 4 sur la table, 4 sous les lits, et 10 au-dessus de la tête des malades. Sur ce nombre, 7 se sont montrés virulents; ces derniers comprenaient 2 échantillons pris sur la table, 2 sous les lits et 3 au-dessus de la tête des malades. La virulence des poussières a donc été reconnue dans 38, 88 p. 100 des cas; mais, pour chaque échantillon prélevé et virulent, la totalité des cobayes n'ont pas toujours été tuberculisés: sur 50 cobayes inoculés et survivants, 13 ou 26 p. 100 ont contracté la tuberculose.

Ces résultats confirment ceux de Cornet et de B. Heymann; ils nous montrent, de plus, que l'usage du crachoir ne suffit pas pour empêcher la pollution totale d'une salle occupée par un tuberculeux cavitair.

TABLEAU RÉCAPITULATIF CONCERNANT LES INOCULATIONS DES POUSSIÈRES

ÉCHANTILLONS n ^{os} .	ENDROITS où les poussières ont été recueillies.	NOMS des malades.	NOMBRE de cobayes survivants.	NOMBRE DE COBAYES	
				tuberculeux.	sains.
1	Sur la table.	Dum. et And.	2	0	2
2	Sur la table.	Dum. et And.	3	1	2
3	Sur la table.	And. et Bill.	3	2	1
4	Sur la table.	And. et Bill.	3	0	3
5	Sous les lits.	Dum.	2	1	1
6	Sous les lits.	Dum.	3	0	3
7	Sous les lits.	And.	3	2	1
8	Sous les lits.	And.	2	0	2
9	Au-dessus des malades.	Dum.	3	2	1
10	Au-dessus des malades.	Dum.	3	3	0
11	Au-dessus des malades.	And.	2	0	2
12	Au-dessus des malades.	And.	3	0	3
13	Au-dessus des malades.	And.	3	2	1
14	Au-dessus des malades.	And.	3	0	3
15	Au-dessus des malades.	And.	3	0	3
16	Au-dessus des malades.	Bill.	3	0	3
17	Au-dessus des malades.	Bill.	3	0	3
18	Au-dessus des malades.	Bill.	3	0	3
			50	13	37

En résumé : { 7 échantillons virulents sur 18 ou 38 p. 100.
 { 13 cobayes tuberculeux sur 50 ou 26 p. 100.

La tuberculose communiquée par l'inoculation des poussières a été le plus souvent aussi *une tuberculose à évolution lente*; mais, pour un échantillon au moins, lequel fut recueilli au-dessus d'un malade (Dum...), la maladie avait une évolution subaiguë avec caséification prononcée, dénotant une virulence moyenne des bacilles. Cet état d'atténuation des bacilles rencontrés dans les poussières, prouve également que *ces agents avaient été desséchés un certain temps et qu'ils ne provenaient pas directement de l'organisme*, comme s'il se fut agi de projection liquide récente.

Mentionnons enfin que la tuberculose des cobayes fut toujours en tous points caractéristique, et que l'on découvrit constamment des bacilles de Koch dans les lésions d'inoculation.

Les malades, ayant occupé cette chambre, furent And., (mort un mois après), Dum... (mort en cours d'expérience),

Bill... (sorti de l'hôpital dans un état grave); les deux derniers se sont prêtés à des épreuves d'inhalation de l'air expiré au moment de la toux, mais le résultat de ces épreuves a été négatif.

VIRULENCE DES POUSSIÈRES DES CHAMBRES RECHERCHÉE PAR INHALATION

La cohabitation de cobayes avec les malades et l'inoculation des poussières recueillies dans les chambres nous ont démontré irréfutablement que l'air véhicule des bacilles; mais nous savons que la virulence par inoculation sous-cutanée n'est pas identique à la virulence par inhalation.

C'est pourquoi nous nous sommes demandé s'il était possible de démontrer expérimentalement que l'infection des cobayes, dans les expériences de cohabitation, est due aux poussières des linges; dans l'affirmative, nous aurions une confirmation intéressante de toutes nos déductions précédentes.

Envisageant cette possibilité, nous avons eu l'idée de réaliser l'expérience suivante :

Disposant de deux chambres contiguës, de deux lits chacune, et de deux phthisiques richement bacillaires, nous avons fait changer ces derniers de chambre tous les soirs à 6 heures; il en résultait que, dans le jour, l'une des chambres était toujours libre. Nous avons exposé deux lots de cobayes à l'infection : 1° Un lot A, comprenant 19 cobayes, se trouvait avec les malades d'une manière permanente; il les suivait tous les soirs, au moment du changement de chambre; un lot B, comprenant 18 cobayes, ne se trouvait jamais avec les malades, mais il était exposé à la cause d'infection résultant des poussières des chambres; pour cela nous le faisons apporter tous les matins à 7 heures dans la chambre libre depuis la veille, et, en présence de ce lot de cobayes, on procédait au nettoyage de la chambre et à la réfection des lits. Le soir, un peu avant le retour des malades, le lot B était ramené au laboratoire où il passait la nuit : le lendemain matin, ce lot B était rapporté dans la chambre occupée la veille, etc. (fig. 6).

Cette expérience se confond en partie avec l'expérience V de

cohabitation ; cette dernière comprend en effet le lot A, et nous en avons indiqué le résultat.

En opérant ainsi, nous n'avons pas manqué d'observer que le lot A était exposé toute la journée et toute la nuit à inhaler des particules sèches, car chaque mouvement de l'un ou l'autre des malades pouvait mobiliser des poussières venant des linges de corps ou des draps et couvertures. Pour le lot B, le danger existait à peu près exclusivement pendant le temps où l'on faisait la chambre et les quelques heures qui suivaient ; encore

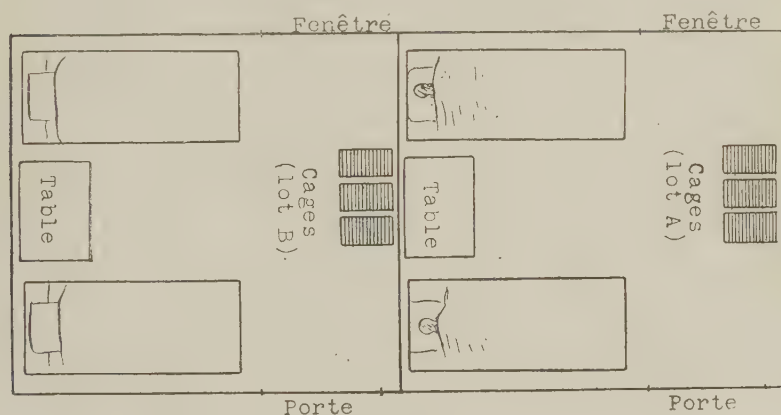


FIG. 6. — Plan schématique des deux chambres (de 41 mètres cubes), contiguës, disposées pour la recherche de la virulence des poussières par inhalation.

(Echelle : 1/50.)

ce danger diminuait-il rapidement dès que les soins habituels du ménage avaient cessé de l'entretenir.

Les chances d'infection étaient donc beaucoup plus faibles pour le lot B que pour le lot A.

Afin de compenser en partie cette inégalité, nous avons prolongé l'épreuve pour le lot B ; tandis que pour le lot A, l'expérience a duré 38 jours, elle a continué pour le lot B, pendant 70 jours.

L'expérience a été commencée le 26 février 1913. D'une manière constante, il y a eu deux malades dans l'une des chambres, mais deux de ces malades étant décédés, nous les avons remplacés par deux autres également bacillaires. Ces malades ont été : 1^o Cr..., du 26 février au 4 mars, 71.000 ba-

cilles par milligramme de crachats; 2° Leg..., du 26 février au 3 avril, 35.000 bacilles par milligramme; 3° Dum..., du 6 mars au 7 mai, 50.000 bacilles par milligramme; 4° Dant..., du 8 avril au 7 mai, 80.000 bacilles par milligramme. Tous ces malades avaient des lésions plus ou moins prononcées de laryngite bacillaire.

L'expérience a été terminée le 5 avril pour le lot A, et le 7 mai pour le lot B.

Nous avons vu que le lot A, sacrifié le 8 mai, a donné 15 *tuberculeux sur 19 cobayes exposés*. Le lot B, exposé seulement à l'inhalation des poussières de la chambre pendant un temps plus court, a fourni 2 *tuberculeux sur 18 cobayes*; ces derniers ont été sacrifiés 35 jours après la fin de l'expérience, c'est-à-dire le 11 juin.

Ce dernier résultat est donc conforme aux précédents; la virulence des poussières, déjà établie par inoculation, est à nouveau démontrée par inhalation, sans qu'on puisse songer à une infection possible par les gouttelettes puisque les animaux de la série B ne sont venus dans les chambres que 14 heures après le départ des malades; or, nous avons constaté que les particules liquides mettent environ 7 heures à se déposer après leur pulvérisation dans l'atmosphère.

ORIGINE DES POUSSIÈRES : DANGER DES MOUCHOIRS

De précédentes recherches nous ont permis de dire que la simple agitation de linges ayant reçu des mucosités de phtisiques suffit à mobiliser des particules respirables. Le linge qui nous semble immédiatement le plus dangereux est, par conséquent, le mouchoir. Nous avons noté que les malades auprès desquels nous avons fait cohabiter des cobayes avaient tous un mouchoir à leur disposition et qu'ils le déposaient sous l'oreiller ou le traversin. Voyons donc jusqu'à quel point le mouchoir, conservé par le tuberculeux, peut communiquer la tuberculose par inhalation.

Exp. I. — Pour cette expérience et la suivante nous avons remis à deux malades deux linges de coton blanc, en les priant de se servir de ces linges

(1) *Comptes rendus de l'Académie des Sciences*, 24 février 1913.

comme de mouchoirs, pendant une période de 2 jours. Ce temps écoulé, nous avons retiré les deux linges et les avons conservés à la température de l'appartement et à la lumière diffuse pendant 24 ou 48 heures. Ces linges étaient plus ou moins souillés. Pendant le temps de conservation, il faut noter que les linges n'étaient pas dépliés et étendus, mais « pelotonnés », tels qu'ils se trouvent dans la poche; cette condition est défavorable à la dessiccation, surtout à la température ordinaire.

Le premier linge, utilisé par le malade E. Rec..., présentant 90.000 bacilles par milligramme de crachats purs, a été conservé 24 heures dans notre bibliothèque; ce temps écoulé, il servit pour la présente expérience, qui fut faite le 29 septembre 1912. La caisse 126, à inhalation, étant disposée comme dans nos précédentes épreuves d'agitation de linges (1), nous y avons

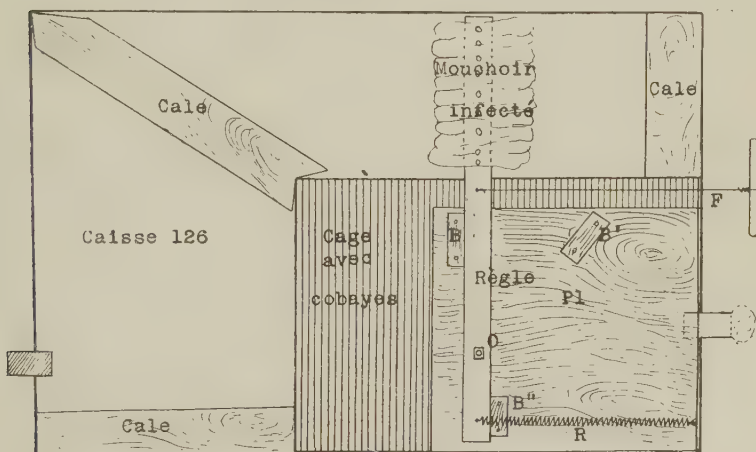


FIG. 7. — Coupe horizontale de la caisse 126, à inhalation, disposée pour l'épreuve de transmission par agitation de linges bacillaires.

Règle mobile autour du point O, et portant le linge; B, B', B'' : buttoirs; R : ressort de rappel; Pl : planchette-support; F : fil de fer pouvant être tiré de l'extérieur.

placé 6 cobayes; ensuite 200 mouvements d'agitation ont été effectués en 2 minutes environ et les animaux sont restés dans l'appareil pendant 2 heures 30 minutes.

Sacrifiés 23 à 28 jours plus tard, 2 sujets sur les 6 étaient tuberculeux; ils présentaient chacun un tubercule pulmonaire primitif bien développé avec adénite caséeuse prononcée.

EXP. II. — Faite le 30 septembre 1912, selon la même méthode, avec la compresse-mouchoir d'un malade ayant environ 105.000 bacilles par milligramme de crachats (M. Lef...). Cette compresse, utilisée comme mouchoir pendant 48 heures, a été conservée ensuite un temps égal, « pelotonnée », dans notre bibliothèque.

(1) *Revue d'Hygiène et de Police sanitaire*, 20 octobre 1913.

Six cobayes étant dans la caisse à inhalation, nous exécutons, en 5 minutes environ, 500 mouvements d'agitation du linge; les cobayes inhalent l'air de la caisse pendant 2 h. 30 minutes. Morts ou sacrifiés 19 à 27 jours plus tard *ils ont respectivement 10, 33, 14, 30, 36 et 33 tubercules pulmonaires primitifs chacun*; comme on le voit, il s'agit-là d'une infection particulièrement intense.

Exp. III. — Exécutée en avril 1913 avec le mouchoir du malade Lef..., dont les crachats contiennent environ 30.000 bacilles par milligramme; ce malade est assez propre.

Dans cette expérience et les suivantes, les mouchoirs ont été pris aux malades d'une façon inopinée, sous prétexte de les faire laver.

Le mouchoir du malade Lef... a été conservé 6 jours avant de servir; pendant le temps de conservation, il était à moitié étalé. En présence de 8 cobayes, nous exécutons 500 mouvements d'agitation en 5 minutes, dans la caisse de 126 litres; les animaux inhalent pendant 1 h. 40 minutes. Sacrifiés 35 jours plus tard, *tous ces cobayes sont sains*.

Exp. IV. — Exécutée également en avril 1913 avec le mouchoir du malade Bar... Ce malade est propre; il a environ 80.000 bacilles par milligramme de mucosité. Le mouchoir est conservé 5 jours dans les conditions ci-dessus.

Nous effectuons 600 mouvements d'agitation; 10 cobayes inhalent pendant 1 h. 45 minutes; sacrifiés 35 jours plus tard, *aucun d'eux n'est tuberculeux*.

Exp. V. — Faite en juillet 1913 avec le mouchoir du malade Soret..., qui présente 95.000 bacilles par milligramme de crachats. Ce mouchoir est conservé 2 jours et demi complètement étendu. Nous réalisons 400 mouvements d'agitation; 6 *cobayes survivants donnent 4 tuberculeux* ayant chacun un tubercule pulmonaire primitif; mais ces tubercules sont peu développés et les ganglions correspondants sont modérément hypertrophiés et peu caséeux; il s'agit assurément de tuberculose atténuée par la dessiccation.

Exp. VI. — Faite avec le mouchoir du même malade, en conservant ce linge 2 jours de plus. 400 mouvements d'agitation sont exécutés; les cobayes inhalent pendant 1 h. 50 minutes; sacrifiés 35 jours plus tard, *4 sujets, sur les 6, sont tuberculeux*, chacun avec un tubercule primitif, une adénopathie caséuse moyennement développée et des lésions de généralisation au début; cette tuberculose est du type atténué.

Exp. VII. — Réalisée en juillet 1915 avec le mouchoir du malade Bon..., dont les crachats contiennent 50.000 bacilles par milligramme; ce malade est propre et me fait savoir qu'il ne crache pas dans son mouchoir. Après 1 jour de dessiccation, étalé, le mouchoir est agité 350 fois; 6 cobayes inhalent pendant 1 h. 30 minutes; *tués après 35 jours, ils sont tous indemnes*.

Exp. VIII. — Faite en juillet 1913 avec le mouchoir du malade Danel... qui a 120.000 bacilles par milligramme de crachats; ce mouchoir a été pris à côté de l'oreiller pendant que le malade dormait. Après un jour de dessiccation, complètement étalé, il est agité 300 fois en présence de 9 cobayes qui inhalent pendant 1 heure et demie. Morts ou sacrifiés, 29 à 35 jours après, *tous ces cobayes sont tuberculeux*; ils *présentent en moyenne 38 tubercules pulmonaires primitifs*; les lésions sont bien développées et fortement caséuses.

Il convient d'observer que ce malade, très sale, a servi pour les expériences V et VI d'inhalation de l'air expiré pendant la toux; tandis que l'expérience VI a donné un résultat négatif, l'expérience V a fourni un cobaye tuberculeux sur 12, avec un tubercule primitif; il est très vraisemblable, avons-nous dit, qu'une particule sèche, provenant de ce malade éminemment contagieux, a été la cause de ce cas d'infection (second mémoire; ces Annales, 25 juillet 1914).

Exp. IX. — Le même mouchoir du malade Danel..., conservé 3 jours de plus, parfaitement étalé, sert pour une nouvelle expérience; celle-ci a donc lieu après 4 jours de dessiccation.

Nous effectuons 350 mouvements d'agitation en 3 minutes, et les 9 cobayes employés inhalent pendant 2 h. 20 minutes. Morts ou sacrifiés, 27 à 35 jours après, *ces 9 animaux sont tuberculeux*, et ils présentent en moyenne 14 *tubercules pulmonaires primitifs*.

Exp. X. — Le même mouchoir, conservé encore 2 jours de plus, dans les mêmes conditions, sert pour une dernière expérience; celle-ci a donc eu lieu après 6 jours de dessiccation, et en été; le linge était parfaitement sec après 24 heures, et l'action atténuante de la lumière diffuse et de la sécheresse s'est prolongée 5 jours de plus.

Nous effectuons 500 mouvements d'agitation; 7 cobayes survivants ont inhalé pendant 1 heure et demie; ces animaux ont été sacrifiés après 35 jours; 6 *sur les 7 étaient tuberculeux*, et ils présentaient en moyenne 3 *tubercules primitifs*. Il importe de remarquer que ces lésions, ainsi que les adénopathies correspondantes, étaient moins développées qu'avec le virus frais du même malade; dans cette dernière expérience, il s'agissait donc d'un *virus notablement atténué* et sur le point de perdre sa virulence par inhalation.

Le tableau récapitulatif ci-après permet de voir l'ensemble des résultats que nous avons obtenus avec les mouchoirs.

Tout d'abord on remarque qu'il existe de grandes différences, selon les malades, dans le pouvoir tuberculigène des mouchoirs; les malades qui ne font que s'essuyer les lèvres sont les moins dangereux; ceux qui crachent dans leur mouchoir sont très redoutables.

Au total, sur 10 expériences faites avec les mouchoirs, 7 ont donné des résultats positifs; 41 cobayes, sur 73 utilisés et survivants, ont été tuberculisés, en quelques minutes d'agitation, soit environ 56,4 p. 100.

Nous avons constaté d'autre part, en accord avec nos précédentes conclusions sur la vitalité, que le danger des linges diminue assez vite, aussitôt que la dessiccation est réalisée; ce danger tend à devenir nul vers le dixième jour, si la dessiccation est bonne. De plus, nous avons obtenu, dans les expériences V, VI et X, des tuberculoses d'inhalation manifestement atténuées.

TABLEAU RÉCAPITULATIF
DES EXPÉRIENCES FAITES AVEC LES MOUCHOIRS DES TUBERCULEUX.

EXPÉRIENCES n ^{os} .	NOMS des malades.	RICHESSE bacillaire des crachats par milligramme.	TEMPS de la dessiccation.	NOMBRE DE COBAYES		NOMBRE MOYEN de tubercules primitifs.	OBSERVATIONS
				sains.	tuberculeux.		
1	E. Rec.	90.000	4 jour.	3	3	4	Malade sale.
2	M. Lef.	130.000	2 jours.	0	6	26	Malade sale.
3	Laf.	30.000	6 jours.	8	0	Malade propre.
4	Bar.	80.000	3 jours.	10	0	Malade propre.
5	Sor.	95.000	2 j. 1/2.	2	4	1	Malade sale.
6	Sor.	95.000	4 j. 1/2.	2	4	1	Malade sale.
7	Bon.	50.000	4 jour.	6	0	Malade propre.
8	Danel.	120.000	4 jour.	0	9	38	Malade sale.
9	Danel.	120.000	4 jours.	0	9	44	Malade sale.
10	Danel.	120.000	6 jours.	1	6	3	Malade sale.
				32	41		
				73			

Nous avons recherché, en outre, s'il était possible de communiquer la tuberculose au cobaye, par inhalation, en se servant des taies d'oreiller des malades, et en opérant comme avec les mouchoirs. Six expériences ont été ainsi faites, avec des taies d'oreillers provenant de malades propres, mais dont les expectorations étaient riches en bacilles (Laf... et Bar...). Les temps de conservation de ces taies ont été de 2, 3 et 4 jours; sur 58 cobayes ayant inhalé, en plusieurs séries, *aucun n'est devenu tuberculeux*.

Avec les torchons ayant servi le matin à faire le ménage, à essuyer les meubles et boiseries, mais non les tables placées à côté des lits, nous avons eu également *quatre résultats négatifs* en procédant par inhalation.

D'où proviennent donc les bacilles contenus dans les poussières des chambres, ces poussières ayant été reconnues virulentes? Ils ne peuvent venir que des mouchoirs, du linge de corps, de la barbe, de la figure et des mains du malade, et, pour une part difficile à apprécier, des linges du lit souillés directement par les projections de salive ou de crachats.

Dans d'autres essais nous avons mis en évidence la virulence des cheveux du malade, par souillure de crachats, notamment pour le malade Danel. Pour 4 malades à la 3^e période, nous avons prélevé, après décès, des mèches de cheveux qui ont été lavées à l'eau stérile; ce liquide a été inoculé à quatre lots de 4 cobayes; la virulence a été constatée 2 fois sur 4; mais, dans chaque lot, un seul animal sur 4 inoculés et survivants, est devenu tuberculeux et ses lésions étaient dues manifestement à un bacille atténué par dessiccation.

Les linges du lit ne doivent recéler qu'une quantité relativement faible de bacilles, si on les compare aux mouchoirs; le danger ne devient important que par sa répétition et sa prolongation.

Nous avons bien noté que dans tous les récipients mis dans les chambres, pour recueillir les poussières, il y avait un grand nombre de filaments blancs venant des linges; et que ces poussières étaient virulentes dans plus d'un tiers des cas. Mais il existait en outre des poussières plus fines, car les filaments dont il s'agit n'auraient pu tuberculiser nos cobayes par inhalation, dans les expériences de cohabitation; les dimensions trop grandes de ces filaments s'opposeraient en effet à leur respirabilité.

COMMENT CONCEVOIR LA CONTAGION DANS LES VÉHICULES ET LIEUX PUBLICS

Il n'est nécessaire de faire aucune démonstration pour savoir que plus le virus est dilué, moins les chances de contagion sont grandes; plus les contacts directs ou indirects avec les malades sont répétés, et plus les chances de contamination sont élevées.

Les travaux de Cornet et de quelques autres auteurs montrent que les poussières des rues ne sont pas virulentes. Il résulte d'une statistique de Hirt (cité par Cornet, in *Ueber Tuberkulose*, page 107) que les balayeurs des rues, qui inhalent une grande quantité de ces poussières, ne présentent pas une morbidité tuberculeuse, ni même une proportion d'affections des voies respiratoires, plus élevées que les moyennes. Pareillement Kunz (1900) n'a pu mettre le bacille en évidence avec 20 échantillons de poussières des rues.

Cette innocuité des poussières des rues s'explique aussi par ce que nous avons fait connaître personnellement sur la vitalité du bacille tuberculeux : cet agent pathogène est non seulement dilué, mais il est détruit encore plus rapidement que dans les conditions de l'habitation. Lorsque le sol est sec, la vitalité ne dépasse pas quelques jours ; lorsque le sol est humide, les poussières sont fixées et ne peuvent être inhalées.

Toute cause qui empêche la dilution du virus et retarde l'action atténuante de la lumière et de la dessiccation augmente la nocivité des poussières. La contagion a donc quelques chances de se produire dans les locaux très fréquentés par le public, et cela d'autant plus que la circulation d'air y est moins active, la capacité plus faible, et le sol plus fréquemment souillé par des expectorations.

Toutefois, Cacace (1901) n'a eu que des résultats négatifs avec la poussière des écoles ; Kelsch (1899) n'a enregistré qu'un seul résultat positif avec les poussières des casernements de Lyon ; Gotschlich (1903) ne trouve aucun échantillon virulent sur 119 prélèvements effectués dans les gares ou les maisons de commerce ; la même année, Belli échoue totalement avec 39 échantillons de poussières des vaisseaux de guerre. Cependant, Mitulescu (1902) aurait démontré la virulence des poussières des livres d'une bibliothèque populaire, mais ce résultat nous semble très douteux.

Certains locaux, tels que les bureaux et ateliers, par suite de la proximité de sujets malades et de sujets sains, réalisent en partie les conditions de l'habitation du tuberculeux quant au danger de transmission ; cependant, l'une des plus grandes causes ne s'y trouve pas : l'agitation des linges du lit. Le malade propre ne fera courir à ses voisins qu'un danger insignifiant ; celui qui utilisera un mouchoir souillé de crachats desséchés, et portera des habits également bacillaires qui parfois seront brossés à une faible distance, sera redoutable.

Dans la cohabitation nécessitée par le travail en commun, les chances d'infection deviennent importantes aussi parce qu'elles sont quotidiennement renouvelées.

Il est un lieu public où toutes les conditions semblent réunies pour la transmission de la maladie s'il y a émission de

bacilles, et qui pourra nous servir d'exemple à étudier : c'est le wagon de chemin de fer, spécialement celui qui est le plus mal tenu, c'est-à-dire le wagon de troisième classe et le compartiment de fumeurs.

Praussnitz (1891) rapporte avoir reconnu la virulence de 5 échantillons de poussières sur 20, qui avaient été recueillis dans les wagons de la ligne Berlin-Meran ; cette ligne, fréquentée par des malades, était donc très dangereuse, au moins à cette époque.

Nous avons voulu nous rendre compte du danger des poussières des wagons en faisant des prélèvements dans les compartiments de fumeurs de la ligne de Paris-Versailles. Dans ces compartiments il y a des traces nombreuses d'expectorations : le nettoyage est insuffisant ; la poussière s'accumule dans tous les endroits tant soit peu inaccessibles au balai ; de plus, le balayage est fait d'une manière habituelle quand les voyageurs occupent déjà les compartiments. Enfin, les trépidations du train en marche mobilisent les particules sèches les plus fines.

Il était donc intéressant de rechercher la virulence des poussières de ces wagons. Pour ce faire, à diverses dates, et dans divers compartiments de fumeurs, nous avons prélevé 11 échantillons de poussières. Chaque échantillon, délayé avec un peu d'eau stérile, a été inoculé sous la peau de 4 cobayes. Une partie des animaux sont morts de complications septiques précoces ; mais, étant donné le nombre des inoculés, nous avons eu des survivants dans tous les lots, c'est-à-dire pour les 11 échantillons de poussières. *Aucun des animaux n'a contracté la tuberculose.*

De ces constatations on ne peut certes pas déduire que les poussières des wagons ne sont pas dangereuses, mais seulement qu'elles sont moins fréquemment virulentes que celles des locaux où séjournent des malades.

Dans les divers véhicules et lieux publics les malades ne font que passer ; les nettoyages sont tout au moins quotidiens. Si des expectorations bacillaires sont déposées sur le sol, c'est d'une manière occasionnelle et en petite quantité. Le danger des poussières des lieux fréquentés par le public n'est certes pas nul, mais il est généralement faible comparé à celui des poussières des locaux occupés par les malades.

Ce qu'il faut plutôt envisager comme cause de contagion dans les rassemblements, c'est la mobilisation des poussières virulentes apportées sur les habits ou répandues par les mouchoirs que l'on déploie en leur faisant subir des froissements; mais c'est là encore un danger qui a peu de chances de se répéter pour la même personne.

CONTAGION D'ORIGINE ANIMALE

Nous ne voulons pas ouvrir ici un long chapitre sur les causes d'infection tuberculeuse d'origine animale. On sait que, selon Behring et quelques autres auteurs, la tuberculose humaine a sa source principale dans le lait et dans la viande.

En 1911 (*Annales de l'Institut Pasteur*, 25 juillet), et tout récemment (*Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, 20 octobre 1913), nous avons publié quelques documents qui doivent, pensons-nous, entraîner le rejet de cette hypothèse. En France, la tuberculose bovine n'est pas aussi étendue qu'on le dit généralement : 6 à 20 p. 100 des bovins sont tuberculeux, la plupart avec de faibles lésions. 0,60 p. 100 des porcs sont touchés par la maladie. Si le lait était aussi dangereux que certains le supposent, c'est le veau qui serait tuberculisé le plus fréquemment; or, des recherches que nous avons faites chez cet animal, et qui portent à ce jour sur environ 35.000 sujets, il résulte que la morbidité tuberculeuse du veau est d'environ 1 p. 400; mais, parmi ces animaux, il en est seulement 1 sur 6.000 qui soit infecté par ingestion lactée. A plus forte raison, l'homme ne peut trouver dans le lait de vache, ce liquide étant le plus souvent ingéré après ébullition, la source habituelle de sa propre tuberculose; il s'agit seulement d'une source d'exception que, du reste, il ne faut pas négliger.

Ces conclusions ont été confirmées au dernier Congrès contre la tuberculose tenu à Rome, en 1912, par Kossel, Gosio, Jatta.

D'autres recherches inédites que nous avons réalisées nous montrent, confirmant en cela les conclusions de divers auteurs, que le muscle des bœufs et porcs tuberculeux généralisés n'est pas virulent par inoculation au cobaye; notons bien qu'il s'agit ici des animaux que nous retirons de la consommation et qui

sont atteints de généralisation sanguine indiscutable. Cette autre origine animale de la tuberculose humaine est donc encore plus rarement exacte que la première.

Tout indique également que l'infection par inhalation d'origine animale, c'est-à-dire par la cohabitation avec des bovins tuberculeux, ne joue aucun rôle appréciable : c'est parmi la population rurale que la tuberculose humaine est le plus rarement observée.

Enfin, les autopsies faites chez l'homme tendent à incriminer l'inhalation comme le mode de contagion presque exclusif ; et nous avons bien constaté, dans nos expériences de cohabitation de cobayes avec les malades, que les sujets tuberculisés présentaient une tuberculose d'inhalation absolument typique et identique à celle que nous obtenons expérimentalement.

Ces divers résultats, qui se confirment mutuellement d'une manière remarquable, font ressortir, autant qu'il est possible, l'intérêt des acquisitions que nous avons faites sur la contagion par inhalation dans l'espèce humaine. Le rôle de ce mode d'infection nous apparaît donc extrêmement important et il est d'une utilité primordiale de savoir dans quelles conditions il se réalise ; est-il besoin de dire qu'en l'absence de connaissances précises sur la contagion on ne saurait faire de bonne prophylaxie ?

CONCLUSIONS.

Des recherches précédentes nous croyons pouvoir conclure :

- 1° La tuberculose humaine est surtout d'origine humaine ;
- 2° La contagion s'effectue très généralement par inhalation ;
- 3° Cette contagion est due aux particules sèches d'une manière exclusive ou presque exclusive, la transmission par les particules liquides ne pouvant être envisagée qu'à titre d'hypothèse, comme un mode exceptionnel et peu vraisemblable ;
- 4° La maladie se contracte principalement dans l'habitation, là où les causes de mobilisation des particules sèches sont réunies au maximum, et le virus où se trouve le plus abondant ;
- 5° Dans la cohabitation avec le malade, en l'absence de précautions suffisantes contre la dissémination du virus, et bien que la résistance du bacille desséché ne soit que de quel-

ques jours, le danger de transmission est beaucoup plus grand qu'on ne le suppose.

Il est, par conséquent, indispensable de prendre des mesures de prophylaxie et de les généraliser; il ne nous semble pas qu'il soit impossible de les appliquer avec les ménagements nécessaires.

Dans la persistance de la morbidité tuberculeuse à un chiffre élevé il faut voir le résultat de la *contagion libre* et attribuer au terrain le rôle tout à fait secondaire qu'il possède réellement. Notre conviction est que, dans l'avenir, tous les efforts auront pour but d'éviter la contagion et que ce sera là, à coup sûr, la méthode la plus fructueuse.

DU ROLE PHYSIOLOGIQUE
JOUÉ PAR LE « BACILLUS BIFIDUS »
DANS LE CANAL INTESTINAL

par CARL A. KLING,
Professeur agrégé à l'Institut Carolin de Stockholm.

(Travail du laboratoire de M. E. Metchnikoff.)

C'est une vérité généralement connue que les enfants élevés au sein résistent beaucoup mieux à toutes sortes d'influences nocives que ceux allaités artificiellement. Aussi la mortalité est-elle beaucoup plus considérable parmi ceux-ci que parmi ceux-là. Les troubles de la digestion constituent une des principales causes de la grande mortalité parmi les enfants au biberon, tandis que ces troubles sont relativement rares chez les enfants au sein, et quand ils apparaissent chez eux, ils sont légers et de courte durée. On s'est beaucoup occupé de trouver l'explication de cette véritable immunité chez l'enfant au sein, et nombre d'opinions ont été avancées à cet égard.

Les recherches de ces dernières années sur la flore de l'intestin et son influence ont enfin commencé à jeter une certaine lumière sur cette intéressante question. Lors de ses études sur l'infection cholérique, Metchnikoff(1) constata que, dans le canal intestinal de certains animaux d'expérience, il existe des micro-organismes ayant la propriété d'empêcher le développement des *vibrions cholériques*, tandis que d'autres, par contre, favorisent l'apparition de l'infection. En faisant ingérer des cultures de ces bactéries empêchantes, ce savant réussit même à rendre ces animaux résistants à la maladie. S'appuyant sur ces expériences, Metchnikoff se demanda si la résistance de l'homme (et aussi de certains animaux) aux vibrions cholériques n'était pas en relation étroite avec la fréquence normale dans le canal intestinal de microbes, empêchant les vibrions de se multiplier et de provoquer l'infection.

Les recherches de Bienstock (2) sur les facteurs qui empêchent la putréfaction sont d'un grand intérêt pour cette question. Il fit l'observation que le *Bacterium coli* et le *B. lactis aerogenes* paralysent l'action du *Bacillus putrificus* sur les substances albuminoïdes. La présence des bactéries lactiques fait que le lait cru n'est pas susceptible de putréfaction, tandis que le lait stérilisé ne tarde pas à la subir.

Lors de ses études fondamentales sur la flore intestinale chez le nourrisson, Tissier (3) aborda aussi la question du rôle joué par les bactéries intestinales normales. C'est le *Bacillus bifidus*, découvert et décrit par lui, ce microbe prédominant dans l'intestin de l'enfant au sein bien portant, qui y joue le rôle d'une espèce empêchante. Il observa que certaines bactéries gazogènes, comme le *B. coli*, le *Coccobacillus perfæ-tens* et autres, quand ils croissent en symbiose avec le *Bacillus bifidus*, sont empêchés dans leur production de gaz et qu'après un certain temps ils ne se laissent plus cultiver. Comme le *Bifidus* fermente aussi diverses espèces de sucre en produisant une grande quantité d'acide, Tissier vit dans ce fait la cause pour laquelle ce micro-organisme empêche le développement d'autres microbes moins résistants aux acides.

A la suite de ces recherches, on commença à s'occuper de plus en plus du rôle physiologique joué par les bactéries intestinales.

Ainsi d'après Eijkmann (4), Conradi et Kurpjuweit (5), il y a dans des cultures de bactéries, des substances thermolabiles (autotoxines), qui, tout en exerçant une action empêchante sur le développement ultérieur des cultures, ont aussi la propriété d'empêcher d'autres bactéries de se multiplier. Les deux derniers de ces auteurs ont trouvé de pareilles substances empêchantes aussi dans les fèces de l'homme adulte et considèrent que le *Bacterium coli* est de la plus grande importance pour la formation de ces substances. Prenant ces recherches pour point de départ, Moro et Murath (6) cherchèrent à trouver de pareilles substances aussi dans les fèces de nourrisson. Ils constatèrent que les excréments de l'enfant au sein, aussi bien que ceux de l'enfant au biberon, exercent une action bactéricide sur un grand nombre de micro-organismes, de sorte que les substances empêchantes ont la valeur de sauvegardes naturelles. Ils supposèrent

que le *Bacillus bifidus* est actif lors de la formation de ces substances et essayèrent d'appuyer cette hypothèse expérimentalement; ils n'y réussirent pas. En revanche ils firent valoir que le *B. coli* est le véritable producteur des substances empêchantes.

Peu de temps après, Rolly (7) chercha à vérifier la découverte d'Eijkmann, de Conradi et de Kurpjuweit, mais il ne put trouver aucune preuve de l'existence de pareilles substances empêchantes ni dans les cultures, ni dans les fèces.

L'étude du rôle joué par les bactéries intestinales dans la physiologie de l'intestin n'est pas encore très avancée, mais les résultats déjà obtenus, quoique en partie contradictoires, sont pourtant intéressants et semblent démontrer que certaines bactéries intestinales de fréquence normale jouent un rôle dans la lutte de l'organisme contre les micro-organismes pathogènes. Cela paraît tout particulièrement le cas du *Bacillus bifidus* qui est l'habitant constant et presque unique de l'intestin de l'enfant nourri au sein et bien portant. Il n'est donc pas sans intérêt de mettre encore à l'étude la question : quel rôle joue le *Bacillus bifidus* pour empêcher l'apparition d'autres bactéries?

Nous nous sommes demandé si une culture du *Bacillus bifidus* exerce une action bactéricide ou empêchante sur certaines bactéries ensemencées. L'espèce de *Bifidus* employée provenait d'un enfant sain, âgé de trois mois et nourri exclusivement avec le lait maternel; il fut cultivé dans une gélose glucosée profonde (4,5 p. 100) selon la méthode employée par Tissier. Le bacille présentait les propriétés indiquées par cet auteur. Pour être à même de déterminer plus exactement son action sur d'autres microbes, il convient de se servir d'un milieu liquide de culture. Le *Bacillus bifidus* pousse bien dans le bouillon ordinaire qu'on additionne de 1 1/2 p. 100 de glucose, pourvu que la culture soit anaérobie. Dans toutes les expériences qui suivent, nous nous sommes servi d'une telle culture en bouillon. Dans des échantillons prélevés sur le liquide de culture, le nombre des bactéries ensemencées est facile à déterminer, à l'aide de la méthode de la numération sur plaque. (Pour plus amples détails, voir ci-dessous.)

EXP. I. — 4,5 cent. cubes d'une culture de *Bifidus* en bouillon de quatre jours, dans laquelle se trouvait un résidu riche en bacilles, sont mêlés avec 4,5 cent. cubes de bouillon sucré et 0,00001 cent. cube d'une culture de *Bact.*

coli com., ou de *Bact. lact. aerogenes* en bouillon, datant de vingt-quatre heures et diluée dans 1 cent. cube d'une solution physiologique salée (I). Par un examen au microscope et l'établissement de cultures, nous nous sommes convaincu que, dans cette expérience comme dans toutes les suivantes, la culture de *Bifidus* était restée pure. A titre de contrôle, nous avons mêlé 9 cent. cubes d'un bouillon sucré avec 0,00001 cent. cube de *Bact. coli* ou de *Bact. lact. aerogenes*, également dilué dans 1 cent. cube de solution physiologique salée (II). Immédiatement après le mélange, nous avons prélevé 0,1 cent. cube sur les différents tubes à essai en vue de déterminer le nombre des bactéries ensemencées. Pour imiter autant que possible les conditions naturelles du canal intestinal, nous avons fait le vide dans les tubes à essai et nous les avons mis à 37 degrés centigrades. Après quarante-huit heures, de nouveaux échantillons furent prélevés. Résultat :

TABLEAU I.

	Bac. coli commune.		Bac. lactis aerogenes.	
	Immédiatement.	Après 48 heures.	Immédiatement.	Après 48 heures.
I.	23.594 (1)	136	1.516	8
II.	37.222	∞	1.084	∞

L'expérience fut faite de manière à tenir toujours en vie le *Bacillus bifidus*, et, en ajoutant du bouillon sucré frais, on lui a donné la possibilité de pousser ultérieurement.

Son action sur les bactéries ensemencées, comme le montre le tableau I, est frappante. Après quarante-huit heures, il ne reste plus en vie de *B. coli* et de *B. aerogenes*, qu'un tout petit nombre, tandis que dans les tubes témoins une quantité innombrable de ces microbes se sont développés. *Une culture de Bifidus en développement agit donc sur le Bac. coli com. et sur le Bact. lact. aerog. comme un liquide bactéricide énergique.*

Quelle peut être la cause de cette action bactéricide qui se manifeste *in vitro*? S'agit-il d'une concurrence entre le *B. bifidus* et les autres bactéries, en ce sens que le *Bifidus*, par suite de son énergie vitale plus intense, enlève aux autres microbes les principes qui servent à leur développement? S'il en est ainsi, on doit s'attendre à ce que l'empêchement de la pullulation du *Bifidus*, réalisé par la vie en présence de l'oxygène, supprime cette action bactéricide. Nous avons entrepris des expériences de ce genre et nous avons constaté qu'au contraire, dans ces conditions, cette action bactéricide persiste.

(1) Nombre de colonies apparues sur la plaque d'agar après vingt-quatre heures.

Exp. II. — I. — 3 cent. cubes d'une culture de *Bifidus* datant de 3 jours sont mêlés avec 3 cent. cubes de bouillon sucré, 0,00001 cent. cube d'une culture de *B. proteus vulgaris*, ou de *Staphylococcus aureus* datant de 24 heures et dilué dans 1 cent. cube de solution physiologique salée. Culture aérobie.

II. — Contrôle. 3 cent. cubes de solution physiologique salée + 3 cent. cubes de bouillon sucré + 0,00001 cent. cube de *prot.* ou de *Staphyl.* dans 1 cent. cube de solution physiologique salée.

TABLEAU II.

	Bac. proteus vulgaris.		Staphylococcus aureus.	
	Immédiatement.	Après 20 heures.	Immédiatement.	Après 20 heures.
I.	10.782	50	2.063	8
II.	4.262	∞	3.596	∞

Les microbes employés dans cette expérience, le *B. proteus vulgaris* et le *Staphylococcus aureus* avaient, comme le montrent les tubes de contrôle, suffisamment de substances alimentaires pour se développer. La même quantité de ces substances se trouvait dans les tubes où les bactéries avaient été mis ensemble avec le *Bac. bifidus*, néanmoins, non seulement ils ne se développèrent pas, mais ils succombèrent. Il ne peut donc pas s'agir d'une concurrence pour les substances alimentaires, mais l'expérience nous prouve plutôt que, *dans un liquide où s'est développé pendant quelque temps le Bac. bifidus, existent des produits ayant des propriétés bactéricides.*

Or, il y avait intérêt à analyser la nature et la provenance de ces substances bactéricides. Pour décider si elles se trouvent dans les corps des bacilles, nous avons fait l'expérience suivante.

Exp. III. — Une culture de *Bifidus* de 7 jours est énergiquement centrifugée. Le liquide est prélevé à l'aide d'une pipette et le résidu lavé à trois reprises dans une solution physiologique salée. Les bacilles lavés sont ensuite dilués dans une quantité de solution physiologique salée de même volume que la culture employée. L'émulsion de bacilles est traitée par la congélation et par un chauffage à 45 degrés centigrades, pratiqués alternativement à plusieurs reprises.

I. — 4 cent. cubes du liquide de centrifugation + 3 cent. cubes de bouillon sucré.

II. — 4 cent. cubes de l'extrait de bacilles + 3 cent. cubes de bouillon sucré.

III. — 4 cent. cubes de solution [physiologique salée + 3 cent. cubes de bouillon sucré.

Tous les tubes furent additionnés de 0,00001 cent. cube de *B. coli*, ou de *B. lactis aerogenes* dans 1 cent. cube de solution salée.

TABLEAU III.

	Bac. coli commune		Bac. lactis aerogenes.	
	Immédiatement.	Après 20 heures.	Immédiatement.	Après 20 heures.
I.	110	36	232	0
II.	92	∞	396	∞
III.	85	∞	1.551	∞

Les bacilles *Bifidus* lavés, et dont on avait préparé l'extrait n'ont aucune action sur le développement du *B. coli* et du *B. lactis aerogenes*; ils poussent dans ce liquide aussi bien que dans un bouillon ordinaire. Le liquide de centrifugation, par contre, exerce un effet bactéricide énergique. L'expérience nous démontre donc que les produits bactéricides d'une culture de *B. bifidus* sont dissous dans le liquide et non liés aux corps mêmes des bacilles.

Les substances en question passent à travers un filtre Chamberland, ce qui ressort de l'expérience suivante :

Exp. IV. — Une culture de *Bifidus* de 5 jours est passée par un filtre Chamberland.

I. — 3,5 cent. cubes du filtrat + 3,5 cent. cubes de bouillon sucré.

II. — 3,5 cent. cubes de solution salée + 3,5 cent. cubes de bouillon sucré.

Chacun des tubes est additionné de 0,00001 cent. cube de *B. coli* ou de *B. lact. aerog.*, dans 1 cent. cube de solution physiologique salée.

TABLEAU IV.

	Bac. coli commune.		Bac. lactis aerogenes.	
	Immédiatement.	Après 20 heures.	Immédiatement.	Après 20 heures.
I.	432	1	26	0
II.	420	∞	29	∞

Les substances bactéricides du sérum sanguin et certaines substances des globules blancs se distinguent, on le sait, par leur thermolabilité. On serait donc porté à supposer que les substances bactéricides existant dans les cultures de *Bifidus* sont de nature semblable. Les deux expériences suivantes prouvent pourtant à l'évidence qu'il n'en est pas ainsi :

Exp. V. — I. — 3 cent. cubes d'une culture de *Bifidus* de 3 jours + 3 cent. cubes de bouillon sucré.

II. — 3 cent. cubes de culture de *Bifidus*, chauffée pendant une demi-heure à 75 degrés centigrades + 3 cent. cubes de bouillon sucré.

III. — 3 cent. cubes de culture de *Bifidus*, chauffée pendant une demi-heure à 100 degrés centigrades + 3 cent. cubes de bouillon sucré.

IV. — 3 cent. cubes de solution physiologique salée + 3 cent. cubes de bouillon sucré.

Tous les tubes sont additionnés de 0,00001 cent. cube de *B. coli* dans 1 cent. cube de solution physiologique salée.

TABLEAU V.

	Immédiatement.	Après 20 heures.
I	464	362
II	620	308
III	632	236
IV	864	∞

Exp. VI. — Une culture de *Bifidus* de sept jours est passée par le filtre Chamberland.

I. — 3 cent. cubes de filtrat + 3 cent. cubes de bouillon sucré.

II. — 3 cent. cubes de filtrat, chauffé pendant une demi-heure à 75 degrés centigrades + 3 cent. cubes de bouillon sucré.

III. — 3 cent. cubes de filtrat, chauffé pendant une demi-heure à 100 degrés centigrades + 3 cent. cubes de bouillon sucré.

IV. — 3 cent. cubes de solution physiologique salée + 3 cent. cubes de bouillon sucré.

Tous les tubes sont additionnés de 0,00001 cent. cube de *B. lactis aerog.*, dans 1 cent. cube de solution physiologique salée.

TABLEAU VI.

	Immédiatement.	Après 20 heures.
I	112	0
II	124	1
III	152	2
IV	150	∞

Les cultures de *Bifidus* chauffées pendant une demi-heure à 75 ou à 100 degrés centigrades exercent la même action bactéricide que la culture non chauffée (tabl. V). Il en est de même des filtrats Chamberland (tabl. VI).

Ces deux expériences nous démontrent donc que les substances bactéricides renfermées dans une culture de *Bifidus*, sont thermostables.

Pour déterminer plus exactement la nature des corps en question, nous les avons encore mis à l'épreuve pour voir comment ils se comportent au point de vue de la dialyse.

Exp. VII. — Un sac en collodion est rempli de 15 cent. cubes d'une culture de *Bifidus* datant de 3 jours, plongé dans 15 cent. cubes d'eau distillée stéril-

lisée et mis à la température de la chambre pendant 48 heures. Par des expériences de culture, nous avons vérifié que les liquides n'étaient pas infectés par d'autres microbes.

I. — 4 cent. cubes de culture de *Bifidus* + 3 cent. cubes de bouillon sucré.

II. — 4 cent. cubes de culture dialysée + 3 cent. cubes de bouillon sucré.

III. — 4 cent. cubes de dialysat + 3 cent. cubes de bouillon sucré.

IV. — 4 cent. cubes de solution physiologique salée + 3 cent. cubes de bouillon sucré.

Chacun des tubes est additionné de 0,00001 cent. cube de culture de *B. coli* ou de *B. lactis aerog.*, dans 1 cent. cube de solution physiologique salée.

TABLEAU VII.

	Bac. coli commune.		Bac. lactis aerogenes.	
	Immédiatement.	Après 18 heures.	Immédiatement	Après 18 heures.
I.	276	64	1.798	73
II.	288	102	1.931	136
III.	312	52	2.121	108
IV.	416	∞	1.588	∞

Les produits bactéricides, comme il ressort du tableau VII, ont passé à travers la membrane de collodion, mais ils restaient tout de même dans le sac en quantité suffisante pour provoquer le même effet bactéricide que le dialysat et la culture originale.

L'expérience nous permet par conséquent de tirer la conclusion que la substance bactéricide n'est pas de nature colloïdale.

Quand le *B. bifidus* s'est développé énergiquement dans un bouillon sucré, la réaction est fortement acide. Cette réaction, comme le montre Tissier, est produite par l'acide lactique et l'acide acétique formés par la décomposition du sucre. Aussi cet auteur est-il d'avis que ces acides constituent la cause de l'action bactéricide de la culture de *Bifidus*. Si la culture est neutralisée, les bacilles *coli* et *lactis aerogenes* poussent librement, comme le montre l'expérience suivante.

Exp. VIII. — Une culture de *Bifidus*, datant de 5 jours est passée au filtre Chamberland. Le filtrat est fortement acide.

I. — 3 cent. cubes de filtrat + 4 cent. cubes de bouillon sucré.

II. — 3 cent. cubes de filtrat neutralisé + 4 cent. cubes de bouillon sucré.

III. — 3 cent. cubes de filtrat, neutralisé et chauffé pendant une demi-heure à 75 degrés centigrades + 4 cent. cubes de bouillon sucré.

IV. — 3 cent. cubes de solution physiologique salée + 4 cent. cubes de bouillon sucré.

Tous les tubes sont additionnés de 0,00001 cent. cube de *B. coli* ou de *B. lactis aerog.*, dans 1 cent. cube de solution physiologique de chlorure de sodium.

TABLEAU VIII.

	Bac. coli commune.		Bac. lactis aerogenes.	
	Immédiatement.	Après 20 heures.	Immédiatement.	Après 20 heures.
I.	632	0	112	0
II.	364	∞	102	∞
III.	356	∞	94	∞
IV.	880	∞	150	∞

On pouvait penser qu'à côté des acides comme facteurs bactéricides, il existait, dans une culture de *Bifidus*, aussi d'autres substances bactéricides, dont la présence ne pourrait être constatée qu'après la neutralisation. L'expérience nous montre qu'il n'en est pas ainsi. Le filtrat de culture neutralisé reste complètement inactif.

Nos expériences ont donc prouvé que les cultures de *B. bifidus* exercent une action bactéricide énergique sur un certain nombre de micro-organismes, tels que *B. coli com.*, *lactis aerogenes*, *proteus vulgaris* et *Staphylococcus aureus*, et que, selon toute vraisemblance, ce sont les produits acides, formés par l'action du *Bifidus* sur le sucre, qui causent la disparition des bactéries. Nous n'avons pas réussi à constater dans une culture de *Bifidus* la présence de substances bactéricides thermolabiles de nature colloïdale, analogues à celles trouvées par Eijkmann, Conradi et Kurpjuweit, Moro et Murath dans des cultures de bactéries et dans des fèces.

Nous avons mentionné que Moro et Murath n'ont pu constater d'action bactéricide chez le *B. bifidus*. Ils examinaient si dans le résidu d'une culture de *Bifidus* en bouillon il existait des substances ayant des propriétés de cette nature. Leur expérience donnant un résultat négatif, ils tirèrent la conclusion que ce microbe ne produit pas de substances empêchantes. Or, que l'extrait de *B. bifidus* n'exerce pas d'action bactéricide, notre expérience III l'a montré. Les expériences de Moro et de Murath ne se trouvent donc pas en contradiction avec les nôtres. Mais dans leurs conclusions ces auteurs n'ont pas tenu compte des produits du développement du *Bacillus bifidus* qui sont susceptibles d'empêcher le développement des bactéries.

Le *Bacillus bifidus* exerce-t-il aussi dans l'intestin cette action

bactéricide que nous avons pu constater *in vitro*? Selon toute vraisemblance, oui. Nous savons que les fèces de l'enfant au sein, bien portant, ont une réaction acide. Chez l'enfant élevé avec du lait de vache, au contraire, nous trouvons assez fréquemment des fèces alcalines. Le sucre introduit avec la nourriture n'est pas complètement résorbé dans l'estomac et l'intestin grêle; il en existe dans le gros intestin des restes qui sont attaqués et décomposés par le *Bacillus bifidus*. La réaction acide des fèces de l'enfant au sein est, selon toute vraisemblance, le résultat de ce processus chimique. Si cette hypothèse est juste, il en résulte que le *Bacillus bifidus* joue un rôle important contre la pullulation dans l'intestin des micro-organismes étrangers pathogènes.

BIBLIOGRAPHIE

1. METCHNIKOFF, *Annales de l'Institut Pasteur*, 1894, p. 529.
2. BIENSTOCK, *Ibidem*, 1899.
3. TISSIER, *Recherches sur la flore intestinale des nourrissons*. Paris, 1900.
4. EISENMANN, *Centr. f. Bakt.*, 1904. Orig., p. 436.
5. CONRADI et KURPJUWEIT, *München. med. Wochenschr.*, 1905, p. 1761.
6. MORO et MURATH, *Wien. klin. Wochenschr.*, 1906, p. 371.
7. ROLLY, *Deutsch. med. Wochenschr.*, 1906, p. 1733.

SUR UN FERMENT CONTENU DANS LES EAUX AGENT DE DÉSHYDRATATION DE LA GLYCÉRINE

par E. VOISENET.

Au cours de mon étude sur un ferment végétant dans les vins amers (1), transformant la *glycérine* en *acroléine*, et que pour cette double raison d'origine et de fonction physiologique,

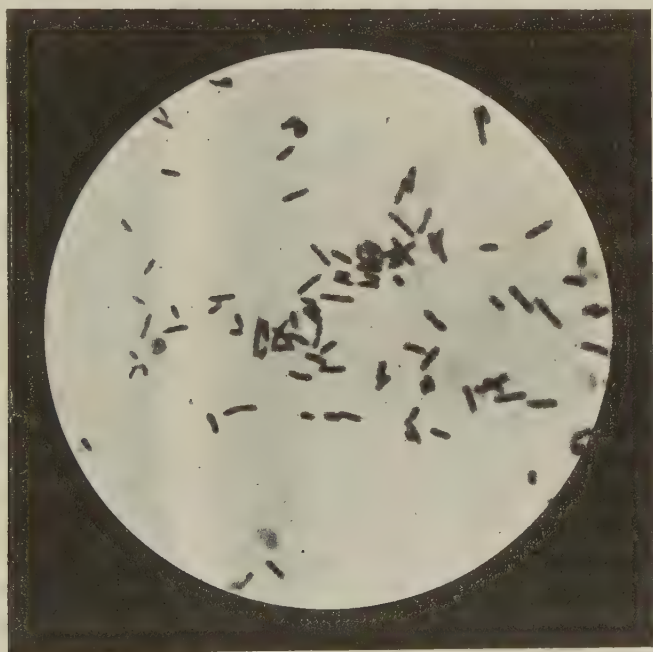


FIG. 1. — *B. amaraerylus*. (Gr. : 4/1875.)

j'ai dénommé *Bacillus amaraerylus* (fig. 1), j'ai reconnu qu'en ensemencant avec de l'eau de Dijon, un milieu minéral glycérimé,

(1) *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, t. CLIII, 1911, p. 363, et t. CLVI, 1913, p. 1481.

peptoné ou non, il se produisait des cultures abondantes d'un bacille présentant les caractères morphologiques de celui que je venais d'isoler des vins amers, et capable, lui aussi, de déshydrater la glycérine.

J'ai appliqué cet essai à des eaux d'origines très diverses : toutes ont confirmé ce résultat. Cette propriété paraît donc générale pour les eaux.

En fait, voici dans sa simplicité, l'expérience qui montre cette déshydratation par voie biologique.

Le milieu liquide de composition suivante :

Sulfate d'ammoniaque	4 gr. 70
Phosphate de potasse	0 gr. 75
Sulfate de magnésie	0 gr. 10
Peptone	10 gr. »
Glycérine	10 gr. »
Eau ordinaire	Un litre,

est placé, en flacon plein et bouché, à l'étuve à la température de 25 à 30 degrés.

Au bout de vingt-quatre heures, le liquide est trouble : s'il a été préparé avec le phosphate bipotassique, sa réaction primitivement alcaline au tournesol, est devenue acide; préparé avec le phosphate monopotassique dont je me suis habituellement servi, sa réaction acide s'est accentuée : il est le siège d'une effervescence constituée par un mélange des gaz hydrogène et acide carbonique; l'hydrogène se dégageant à ce moment en proportion dominante, le gaz carbonique restant dissous en majeure partie.

Dès après cette période, tout à fait initiale, le réactif *protéique acide*, agissant *directement* sur le liquide, révèle généralement l'existence de l'acroléine. Ce réactif est composé des deux solutions suivantes :

Acide chlorhydrique nitreux. — On ajoute à 200 cent. cubes d'acide chlorhydrique pur et concentré ($d=1,18$), 1/10 de centimètre cube d'une solution d'azotite de potasse pur à 3 gr. 6 p. 100.

Eau albumineuse. — A un blanc d'œuf, on ajoute 5 à 7 cent. cubes d'eau distillée et l'on bat énergiquement; on filtre sur une toile en exprimant : on obtient ainsi une solution d'albumine à 10 p. 100 environ.

Pour reconnaître l'acroléine dans le liquide de fermentation, il suffit de mesurer successivement dans une petite éprouvette graduée, 4 cent. cubes de liquide, 1 cent. cube d'eau albumineuse, puis 15 cent. cubes d'acide

chlorhydrique nitreux; après agitation pour redissoudre l'albumine coagulée, le mélange est versé dans un tube à essai pour être placé au bain-marie à 50 degrés : en quelques minutes, il se développe une coloration d'abord *verte*, conservant cette teinte, si la richesse du liquide en acroléine est égale ou supérieure à 1/5.000, et devenant *bleue* ensuite, si la richesse est inférieure à cette proportion.

Quelquefois, l'apparition de l'acroléine est plus rapide ou plus tardive; mais, dans la grande majorité de mes nombreux essais, le réactif l'a toujours décelée au bout de vingt-quatre à quarante-huit heures. Elle se forme aussi à température plus basse, 20, 18 ou 15 degrés; mais au bout d'un temps plus long, elle apparaît également à la température de 35 degrés, mais se transforme rapidement en sorte que sa formation peut passer inaperçue. Elle naît en milieu fortement magnésien, ou moins peptoné, ou purement minéral et sa production dans le vase à fermentation est toujours précédée de celle d'une autre aldéhyde, ainsi que je l'explique dans ce qui suit.

La présence de l'acroléine étant reconnue, le liquide, rectifié à l'aide d'un tube à distillation fractionnée, donne un premier fractionnement irritant pour les muqueuses nasale et surtout lacrymale exposées au voisinage de l'extrémité du réfrigérant. En raison de la facile volatilisation de l'aldéhyde acrylique, son odeur caractéristique si pénétrante se manifeste déjà avant l'entrée en ébullition du liquide et par suite avant l'écoulement dans le tube du réfrigérant des premières portions condensées. En opérant avec des liquides de fermentation donnant *directement* par le réactif *protéique acide* une teinte *verte* accusée et ne virant pas au bleu, indice d'une teneur maxima en acroléine, l'odeur à ce début de la distillation est intolérable; le larmolement est intense, même lorsque l'expérience ne porte que sur un litre de culture : avec de tels liquides, l'action irritante se manifeste déjà dans les vapeurs dégagées par un volume même restreint porté à l'ébullition.

En prenant toutes les précautions requises en pareil cas pour condenser un produit aussi volatil et aussi altérable, on peut recueillir l'acroléine dans un volume réduit de distillatum, et la reconnaître à l'aide de ses autres réactions que j'ai déjà rappelées (1).

(1) *Comptes rendus de l'Acad. des Sciences*, t. CL, 1910, p. 1614; t. CLI, 1910, p. 518.

A part cette réaction fournie par le réactif *protéique acide*, et dont j'ai fait antérieurement l'étude (1), aucune de celles habituellement employées pour caractériser l'aldéhyde acrylique ne m'a permis d'en faire nettement la reconnaissance directe sur le liquide de fermentation, sans concentration préalable par distillation. Cet insuccès tient au manque de sensibilité pour les unes et de spécificité pour les autres ; ce dernier défaut étant commun en particulier au bisulfite de rosaniline et au nitrate d'argent ammoniacal : c'est ainsi que le liquide fermenté recolore bien le réactif de Schiff, parfois même énergiquement, mais cette coloration ne peut qu'annoncer la présence de la fonction aldéhyde sans attribution nominale.

Au contraire, le réactif *protéique acide*, très sensible pour l'acroléine, donne en outre avec elle une réaction distincte de celles fournies par les nombreuses aldéhydes saturées, ou comme elle, non saturées, que j'ai soumises à son action : en particulier, cette distinction existe même à l'égard de son homologue supérieure, l'aldéhyde crotonique, laquelle ne donne pas la coloration bleue fournie par l'acroléine.

Toutefois, il convient de remarquer, surtout pour l'étude actuelle, que l'aldéhyde hydracrylique en solution de titre supérieur à 1/1.000, donne une réaction colorée verte analogue, vraisemblablement par suite de sa transformation partielle en acroléine par déshydratation sous l'influence de l'acide chlorhydrique et de la température. En solution plus diluée, cette aldéhyde fournit sa réaction colorée propre qui est rose ; pour certaines concentrations voisines du titre limite précédent on obtient une coloration mixte parfois dichroïque, rose à reflets verdâtres : dans les mêmes conditions, l'acroléine, même à dose infinitésimale, donne une belle couleur bleue.

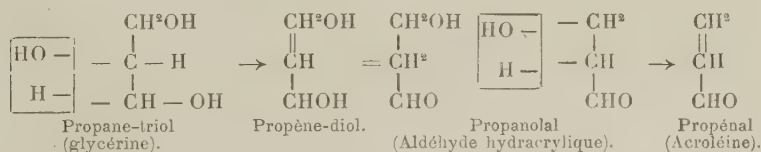
Ainsi, et indépendamment d'autres propriétés, notamment de l'odeur bien moins irritante de l'aldéhyde hydracrylique et de son point d'ébullition beaucoup plus élevé, situé à 90 degrés sous la pression de 18 millimètres, tandis que l'acroléine bout à 52 degrés sous la pression ordinaire, le réactif *protéique acide* permet encore, avec des dilutions convenables, de faire la

(1) Sur une nouvelle réaction colorée de l'acroléine. *Journal de Pharmacie et de Chimie*, t. II, 1910, p. 214.

distinction entre ces deux aldéhydes dont chacune est capable d'engendrer l'autre par les processus inverses d'hydratation et de déshydratation.

Ces propriétés attestent la supériorité évidente de ce réactif pour la reconnaissance de l'aldéhyde acrylique en général, et font que la fermentation précédente, par la facilité de sa démonstration, peut devenir l'objet d'une expérience très intéressante dans un cours ou une séance de travaux pratiques de chimie biologique.

Bien plus, ce réactif permet de reconnaître les deux phases de la déshydratation de la glycérine. On admet en effet, et on enseigne sans le démontrer expérimentalement, que l'action des agents de déshydratation sur ce tri-alcool est comparable à celle qu'ils exercent sur les glycols : une première soustraction d'eau et une isomérisation conduisant au *propanolal* 1-3, aldéhyde saturée; puis, l'action comportant une phase de plus, par suite de la présence d'une troisième fonction alcool, une deuxième soustraction d'eau transforme le *propanolal* en *acroléine*, aldéhyde non saturée :



En suivant la fermentation à l'aide de notre réactif de coloration des aldéhydes, on reconnaît la succession de deux phases aboutissant à la production d'aldéhydes distinctes. En essayant le liquide avant qu'il puisse donner la coloration vert bleuâtre, due à l'acroléine, par exemple quinze à vingt heures après la mise à l'étuve, on obtient une coloration rose qui est due à une aldéhyde, car le liquide recolore aussi le réactif de Schiff : sa production à partir de la glycérine, sa transformation successive en acroléine, sa réaction colorée permettent d'identifier cette aldéhyde avec le *propanolal* 1-3 ou aldéhyde *hydracrylique*.

La même coloration se reproduit d'ailleurs à la fin de la fermentation quand celle-ci devient languissante ; mais la cause en est différente et tient alors à l'incapacité du ferment, paralysé par les acides, de pouvoir réaliser la seconde phase, et la meil-

leure preuve en est qu'il suffit à ce moment d'ajouter du carbonate de chaux pour voir reparaitre l'acroléine quelques heures après, surtout s'il reste encore suffisamment de glycérine à transformer.

C'est encore à la production de ces deux aldéhydes, qu'est due la succession de colorations observées au cours de la fermentation dans l'action du réactif, sur une même prise d'essai du liquide donnant faiblement l'odeur de l'acroléine à la distillation; coloration d'abord rose, puis violacée, devenant finalement bleue.

Au bout de deux jours environ, la quantité d'acroléine peut atteindre 0 gr. 20 par litre, dose maxima compatible avec la vitalité du ferment dans le milieu acide qu'il s'est créé : mais l'aldéhyde acrylique, comme le propanolal dont elle dérive, se transforme sans cesse dans le vase à fermentation et ses métamorphoses sont d'origine chimique et biochimique. Dans ce procès fermentatif de la glycérine, comme dans celui qu'elle subit sous l'action du ferment des vins amers, l'évolution de cette substance et de ses produits successifs de déshydratation, *propanolal* et *acroléine* est subordonnée à divers facteurs, tels que : température, valeur nutritive et réaction du milieu, qualité et quantité du ferment, vie aérobie ou anaérobie, réactions chimiques secondaires, etc.

Lorsque toutes ces conditions s'accordent pour conférer au ferment l'*activité déshydratante maxima*, la première aldéhyde ne subsiste pas dans le liquide, et, à part ses autres métamorphoses, elle est transformée dans la seconde presque au fur et à mesure de sa production : il en résulte un changement souvent subit dans l'allure de la réaction; ainsi, dans plusieurs de mes expériences, j'ai obtenu avec la même culture, par deux examens successifs, à trois heures seulement d'intervalle, passage du rose au vert : c'est alors que le réactif *protéique acide* donne la coloration verte intense et ne virant pas au bleu qui est le témoin de la richesse du liquide en acroléine et de l'instant propice pour son extraction; c'est également à cette période que la distillation révèle au plus haut degré l'odeur intolérable de cette aldéhyde.

Au contraire, lorsque le ferment se présente à la glycérine avec une *activité déshydratante minima* ainsi qu'il arrive au

début et à la fin de la fermentation, mais pour des causes différentes, l'aldéhyde hydracrylique, soit qu'elle demeure dans le liquide, soit qu'elle se transforme, notamment par hydrogénation, y domine néanmoins par rapport à l'acroléine, dont la présence est cependant révélée par la nuance bleue finale de la réaction et l'épreuve organoleptique à la distillation.

Exceptionnellement, le réactif donne uniquement, même au milieu de l'opération, une teinte rose violacé due à la première aldéhyde : dans ce cas, ou bien le ferment est impuissant à réaliser la seconde phase de la déshydratation, ou plutôt la formation de l'acroléine est trop réduite, ses métamorphoses sont trop rapides, pour qu'elle puisse être nettement reconnue.

La coloration rose ne peut être attribuée à la peptone ou à l'un de ses dérivés, car, d'une part, le même liquide de culture non glycérimé ne la reproduit pas dans des conditions comparables ; d'autre part, elle se manifeste avec une culture glycérimée purement minérale.

Il importe également de ne pas la confondre avec la réaction colorée analogue que peut produire l'HCl nitreux agissant seul sur l'albumine dans certaines conditions que j'ai précisées (1) : cette dernière diffère de celle que donne le réactif acide sur la matière protéique en présence d'une aldéhyde, à la fois par le temps nécessaire à sa production, qui est beaucoup plus long ; par l'intensité de la coloration, qui reste toujours faible et par la nature même de cette coloration dans les solutions faibles d'albumine : en particulier, pour cette distinction, il convient, dans les essais comparatifs, de diminuer la dose d'albumine, jusqu'à ce que l'épreuve à blanc des réactifs ne donne qu'une légère coloration orangée.

En rectifiant les liquides de culture qui donnent, avec le réactif *protéique acide*, la coloration verte, signe de la richesse maxima en acroléine, j'ai pu isoler une quantité suffisante de cette aldéhyde pour la caractériser par sa transformation en acide acrylique et sous forme de son sel d'argent.

Chaque culture, du volume de 5 litres, est soumise à la distillation et le premier réactionnement est rectifié une seconde fois sur de l'oxyde de

(1) Sur une réaction colorée des albuminoïdes, *Bulletin de la Société Chimique*, t. XXXIII, 1905, p. 4200.

plomb, pour fixer les traces d'acides volatils : ce dernier distillatum, du volume de 100 cent. cubes environ, est aussitôt mis en rapport avec de l'oxyde d'argent récemment précipité et bien lavé ; on abandonne pendant deux jours à la température ordinaire et dans l'obscurité, en agitant fréquemment : au bout de ce temps, l'odeur acrylique a disparu ; on porte à l'ébullition et on filtre.

L'ensemble des liqueurs ainsi obtenues, du volume de 1 litre environ, et provenant de 50 litres de culture, est additionné de carbonate de soude jusqu'à réaction faiblement alcaline : on filtre, on évapore à sec et on traite le résidu par de l'acide sulfurique dilué de son volume d'eau ; on filtre à nouveau, et la liqueur est soumise à la distillation. Le distillatum saturé à chaud par de l'oxyde d'argent, filtré, laisse déposer par refroidissement dans l'obscurité, des cristaux prismatiques à éclat velouté, brunissant lentement à la lumière. Ce fractionnement cristallin, recueilli et complètement séché à 95 degrés, dans une étuve à air, pèse 1 gr. 28. Soumis à l'analyse, 0 gr. 5778 ont donné : 0 gr. 4204 CO_2 ; 0 gr. 0904 H_2O ; 0 gr. 3498 Ag ; nombres qui permettent d'établir les compositions centésimales suivantes :

	TROUVÉ	CALCULÉ POUR $\text{C}^3\text{H}^3\text{O}^2.\text{Ag}$
C.	19,85	20,11
H.	1,74	1,68
O.	»	17,88
Ag	60,54	60,33
		<hr/> 100,00

résultats qui concordent avec la composition de l'acrylate d'argent.

Il est à remarquer que, dans cette opération, la présence d'aldéhyde hydracrylique ne nuirait pas à l'exactitude de l'analyse, l'acide résultant de son oxydation étant décomposé par l'acide sulfurique en eau et acide acrylique.

En déposant sur une lame une goutte de la culture et la colorant légèrement avec du bleu de méthylène boracique, l'examen microscopique révèle la présence de nombreux bacilles en forme de bâtonnets.

Le ferment a été purifié parensemencements successifs dans le même milieu, puis isolé par des cultures sur plaques de gélatine. Les colonies sont tardives, minuscules, arrondies, blanchâtres, non liquéfiantes. Une trace d'une colonie ensemencée dans le milieu précédent, maintenu à la température de 30 degrés, m'a donné une culture d'un bacille présentant les caractères suivants (fig. 2) :

Petits bâtonnets, mesurant 0,8 μ de largeur, sur 2 μ à 4 μ de longueur, généralement séparés, quelquefois soudés bout à bout, en ligne droite, courbe ou sinueuse, formant dans les cultures anciennes des filaments plus ou

moins longs; bacille très mobile, prenant le Gram, anaérobie facultatif, sporifère, résistant à la dessiccation et à une chaleur sèche de 100 degrés; ne donnant pas d'indol dans les milieux peptonés, mais un peu d'ammoniaque; transformant en nitrite le nitrate de potasse, coagulant le lait; très facile à cultiver, avec température optima de développement comprise entre 30 et 35 degrés; végétant dans le bouillon peptoné phéniqué à 1 p. 1.000, à la température de 42 degrés; il s'accommode de liquides nutritifs minéraux dans lesquels on dissout la matière fermentescible.

Il fait fermenter les sucres et divers alcools polyatomiques, notamment la

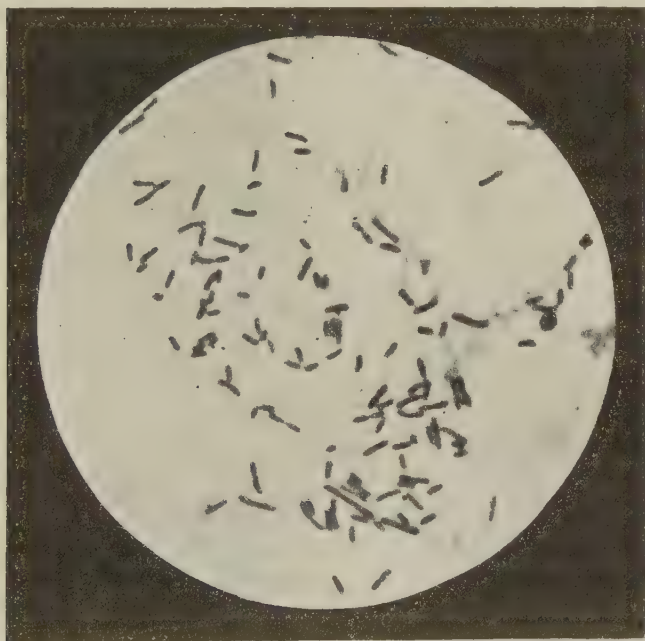


FIG. 2. — Bacille des eaux. (Gr. : 1875/1.)

glycérine et la mannite; il n'agit que modérément sur la dextrine et reste inactif vis-à-vis de l'amidon.

A part l'aldéhyde hydracrylique et l'acroléine, ainsi que leurs dérivés par hydrogénation, comme le glycol triméthylénique; par polymérisation, acétalisation, résinification ou décomposition par l'eau, qu'il fournit avec la glycérine, les produits de ces fermentations sont les suivants : mélange gazeux constitué par de l'hydrogène en proportion dominante et de l'acide carbonique, alcool éthylique; acides formique, acétique, une petite quantité d'acide volatil insoluble, et les acides lactique et succinique.

Tous les faits précédents ont été reproduits et contrôlés avec

l'espèce pure, cultivée en milieu glycérimé peptoné ou purement minéral.

Il est à remarquer que cette fermentation de la glycérine donne lieu à la formation d'une quantité appréciable de glycol triméthylénique.

J'ai reconnu cette production en étudiant l'action en milieu minéral additionné de carbonate de chaux et en recherchant si la transformation était complète; en utilisant les méthodes d'extraction usitées en pareil cas, j'ai obtenu invariablement un résidu sirupeux à saveur chaude et légèrement sucrée, que j'ai pris tout d'abord pour de la glycérine, mais qui n'en contient pas trace, si la fermentation a été suffisamment prolongée et en prenant soin de protéger le bacille contre l'acidité du milieu en remettant en suspension le carbonate de chaux par l'agitation journalière du liquide; ce résidu chauffé avec du bisulfate de potasse ne donne, en effet, aucun dégagement d'acroléine.

Pour l'étudier, je l'ai produit en plus grande quantité en soumettant à la fermentation 300 grammes de glycérine en milieu purement minéral.

Le liquide minéral de Laurent, additionné de 30 grammes de glycérine par litre, est réparti dans des flacons à l'émeri de 1 litre, dans chacun desquels on a introduit 20 grammes de carbonate de chaux; après stérilisation et refroidissement, on ensemence avec l'espèce pure, et les flacons, pleins et munis de leurs bouchons, sont placés à l'étuve à 30 degrés; on agite matin et soir; au bout de trois semaines, la fermentation est terminée et complète.

Le liquide séparé du carbonate de chaux résiduel est soumis à la distillation jusqu'à réduction au cinquième; on précipite exactement la chaux par l'acide oxalique que l'on ajoute ensuite en léger excès pour libérer les acides de leurs combinaisons alcalines; on filtre, et le liquide est évaporé au bain-marie jusqu'à réduction au dixième, puis finalement dans le vide; il se forme un abondant dépôt de sulfate d'ammoniaque; on reprend par l'alcool absolu qui insolubilise complètement ce sel, on filtre, et on évapore à nouveau au bain-marie d'abord, puis dans le vide pour achever de séparer l'alcool. On obtient ainsi un liquide sirupeux que l'on triture avec du sable et que l'on épuise par l'éther concentré pour enlever les acides fixes; le résidu incorporé au sable est ensuite dissous par l'alcool et la solution évaporée comme précédemment abandonne un produit sirupeux très épais, légèrement coloré en brun qui est constitué presque uniquement par du glycol triméthylénique, mélangé à une petite quantité d'une matière azotée d'excrétion du bacille.

En soumettant ce produit à la distillation fractionnée, il se dégage d'abord à 78 degrés des traces d'alcool, ensuite, et jusque vers la température de 150 degrés, une notable quantité de vapeurs à odeur et à réaction ammo-

niacales ; puis le thermomètre monte rapidement et se fixe à 214 degrés, température à laquelle il distille un produit incolore, sirupeux, très épais, à odeur légèrement empyreumatique, à saveur chaude et légèrement sucrée.

Ce liquide ne renferme pas trace de glycérine et présente les caractères d'un alcool ; exposé longuement à l'air, il s'oxyde lentement en donnant une aldéhyde reconnaissable par le réactif de Schiff ; l'oxydation par l'eau oxygénée en liqueur très diluée et en présence de sulfate ferreux, suivie de l'élimination du fer et de l'acide sulfurique par l'eau de baryte, donne immédiatement et avec plus d'intensité le même résultat : de plus, l'aldéhyde ainsi engendrée fournit avec le réactif *pro-téique acide* les caractères de coloration de l'aldéhyde hydracrylique : tous résultats qui, à eux seuls, suffiraient presque à caractériser le propylglycol normal.

Soumis à une deuxième rectification, puis à l'analyse élémentaire, 0 gr. 3520 de ce produit ont donné : 0 gr. 6145 CO^2 ; 0 gr. 3396 H^2O ; d'où les compositions centésimales :

	TROUVÉ	CALCULÉ POUR $\text{C}^3\text{H}^5\text{O}^2$
C.	47,40	47,37
H.	10,71	10,52
O.	»	42,41
		100,00

résultats qui concordent avec la composition d'un propylglycol.

Cette production de glycol triméthylénique que j'avais déjà observée dans l'étude du *Bacillus amaracrylus* est intéressante, car elle peut servir d'appui à la formation de l'aldéhyde hydracrylique jusqu'ici simplement révélée par une réaction colorée et par sa qualité de corps aldéhydique dérivé de la glycérine et transformable en acroléine.

Ce propanolal, corps de transition entre la glycérine et l'acroléine, autre dérivé dont la présence a été dûment constatée, ne jouerait-il pas le même rôle entre la glycérine et le propylglycol dont il est précisément l'aldéhyde et dont l'analyse du liquide révèle également l'existence ?

Sachant que cette fermentation de la glycérine est accompagnée d'une production abondante d'hydrogène, résultant de sa transformation analytique en alcool, en acides formique, acétique, lactique, ou même synthétique sous forme d'acide

succinique, cette hypothèse fondée sur la génération classique d'un alcool par hydrogénation de son aldéhyde prend l'apparence d'une très grande vraisemblance.

En résumé, cette idée étant admise, deux actions principales traduiraient, au moins en partie, cette fermentation de la glycérine :

1° Une *déshydratation* avec production d'aldéhyde hydracrylique, déshydratation complétée par une transformation partielle de ce corps en acroléine : cette action primordiale étant subordonnée à la présence d'un être vivant.

2° Une *hydrogénation*, transformant une autre partie de l'aldéhyde hydracrylique en son alcool, le glycol triméthylénique : cette action secondaire étant purement chimique.

L'aldéhyde hydracrylique deviendrait alors en quelque sorte le pivot de cette transformation et figurerait, même en priorité sur l'acroléine, dans la catégorie de ces corps transitoires dont la présence momentanée dans le vase à fermentation est beaucoup plus utile à reconnaître que celle des termes ultimes et définitifs, parce qu'ils traduisent le mode de fonctionnement de la cellule ferment.

Tous ces faits de l'expérience et de déduction m'ont conduit à cultiver le ferment en milieu nutritif seul ou en présence de substances sur lesquelles il agit, glycérine, mannite, sucres, chacun de ces milieux étant additionné d'aldéhyde hydracrylique par petites doses et graduellement espacées. La quantité maxima de cette aldéhyde tolérée par le ferment est relativement beaucoup plus grande que pour l'acroléine : l'aldéhyde hydracrylique subit une transformation assez rapide ; mais ces expériences ne sont encore qu'à leur début.

En résumé, par ses caractères morphologiques, par ses propriétés biochimiques, au moins qualitatives, ce ferment retiré des eaux, apparaît comme identique au *Bacillus amaracrylus*, isolé des vins amers. Il reste à savoir si cette ressemblance s'affirme encore par l'analyse quantitative des produits formés et si, enfin, ce ferment ensemencé dans un vin de composition favorable à son développement, peut lui communiquer la maladie de l'amertume : c'est là le but de recherches actuellement en cours.

ÉTUDES SUR LA RICINE

RECHERCHE DE LA RICINE (TOXINE ET AGGLUTININE)

DANS LES DIFFÉRENTES ESPÈCES ET VARIÉTÉS DE RICIN

par HENRI AGULHON.

Stillmark a signalé la présence de la ricine (toxine agglutinine) dans 10 espèces différentes de ricin (1). Il nous a paru intéressant de reprendre et d'étendre cette recherche. En effet, il est important de savoir, au point de vue théorique, si la présence de ricine est une propriété spécifique des graines du genre *Ridinus*, un caractère définissant ce genre, comme la présence de certains alcaloïdes définit certaines espèces végétales. D'autre part, la teneur en toxine et agglutinine est-elle constante ou variable suivant les différentes espèces et variétés pour un même poids de graine? Cette dernière question n'a pas été abordée par Stillmark.

Nous avons pu nous procurer 24 espèces ou variétés de graines dont on trouvera l'énumération dans le tableau ci-joint. La longueur des graines variait de 10 millimètres (*R. africanus*) à 22 millimètres (*R. zanzibariensis enormis*).

Dix grammes de graines de chaque espèce étaient broyées au mortier avec 20 cent. cubes d'eau physiologique. Après un quart d'heure de contact, on filtrait sur filtre mouillé. Dans ces conditions on obtenait un liquide clair sur lequel nous recherchions, d'une part la toxine, d'autre part l'agglutinine; 1 cent. cube de nos solutions correspondait donc à 0 gr. 5 de graine (50 p. 100).

(1) Ueber Ricin, *Arbeit. des pharm. Inst. Dorpat*, t. III, p. 145, 1889 (M. Ali-laïre avait déjà reconnu l'existence de toxine spécifique dans certains des échantillons que nous avons étudiés. — Recherches inédites).

RECHERCHE ET TITRAGE DE LA TOXINE.

L'animal d'expérience était le cobaye de 400 à 450 grammes. Les injections étaient faites sous la peau du ventre. Des dilutions successives dans l'eau physiologique de la liqueur primitive nous permettaient d'en injecter 1/10, 1/100, 1/1000, 1/10.000 de cent. cube sous le volume constant de 1 cent. cube.

Le tableau ci-contre donne les résultats obtenus avec les différentes espèces et variétés de ricin. On y note le temps au bout duquel l'animal injecté meurt. Pour les animaux vivants encore après une semaine, nous indiquons la grandeur de l'eschare, en appelant « eschare étendue » une eschare de diamètre supérieur à 3 centimètres, « petite eschare » une eschare de diamètre inférieur à 1 centimètre, et simplement « eschare » tout type intermédiaire entre les deux extrêmes.

On voit que, pour la dose de 1/100 de cent. cube, l'extrait aqueux à 50 p. 100 des graines de toutes les espèces et variétés de ricin étudiées tue le cobaye de 400 à 450 grammes en 1 jour 1/2 à 2 jours. Pour les doses inférieures les variétés de résistance individuelle rendent la concordance des résultats moins nette, mais ces résultats sont cependant du même ordre. Dans tous les cas, les réactions observées étaient bien les réactions caractéristiques de l'intoxication ricinique, comme l'ont montré l'étude anatomo-clinique et l'influence neutralisante du sérum spécifique préparé par M. Truche. On peut donc dire :

1° Que les 21 espèces et variétés de ricin étudiés renferment de la ricine (1);

2° Que pour un même poids de graine, la quantité de toxine, mesurée par ses effets, est sensiblement identique dans tous les cas.

La présence de ricine apparaît donc bien comme un caractère fixe du genre *Ricinus*.

(1) Quatre des espèces étudiées par Stillmark ne figurent pas dans celles que nous avons pu nous procurer : *R. guyanensis nanus*, *R. altissimus*, *R. brasiliensis* et *R. jamaicensis*. Cela fait donc en tout 25 espèces ou variétés dans lesquelles la présence indubitable de toxine a été démontrée jusqu'ici.

DOSE INJECTÉE EN FRACTIONS DE CENTIMÈTRE CUBE DE SOLUTION PRIMITIVE :

	4/40	4/400	4/4.000	4/40.000
<i>Ricinus communis major</i>	Mort en moins de 4 j.	Mort en 1 j. 1/2.	Escarre.	Escarre.
<i>R. communis minor</i>	Mort en moins de 4 j.	Mort en 1 j. 1/2.	Mort en 4 jours.	Petite escarre.
<i>R. africanus</i>	Mort en 4 jour.	Mort en 1 j. 1/2.	Mort en 7 jours.	Escarre.
<i>R. cambodgiensis</i>	Mort en 4 jour.	Mort en 1 j. 1/2.	Mort en 3 j. 1/2.	Petite escarre.
<i>R. sanguineus</i>	Mort en 4 jour.	Mort en 1 j. 1/2.	Mort en 7 jours.	Petite escarre.
<i>R. tricolor</i>	Mort en 4 jour.	Mort en 1 j. 1/2.	Escarre étendue.	Petite escarre.
<i>R. spectabilis</i>	Mort en 1 j. 1/2.	Mort en 4 jours.	Mort en 7 jours.
<i>R. purpureus</i>	Mort en 1 j. 1/2.	Escarre étendue.	Escarre.
<i>R. hybridus panormitanus</i>	Mort en 1 j. 1/2.	Mort en 5 jours.	Escarre.
<i>R. borboniensis arboreus</i>	Mort en 1 j. 1/2.	Mort en 7 jours.	Escarre.
<i>R. macrophyllus purpureus</i>	Mort en 1 j. 1/2.	Mort en 2 jours.	Petite escarre.
<i>R. zanzibariensis</i>	Mort en 1 j. 1/2.	Mort en 3 j. 1/2.	Escarre.
<i>R. — picturatus</i>	Mort en 4 j. 1/2.	Mort en moins de 2 j.	Escarre.	Escarre.
<i>R. — cinerascens</i>	Mort en 1 j. 1/2.	Escarre étendue.	Escarre.
<i>R. — maculatus</i>	Mort en 2 jours.	Escarre étendue.	Escarre.
<i>R. — niger</i>	Mort en 1 j. 1/2.	Escarre.	Escarre.
<i>R. — enormis</i>	Mort en 1 j. 1/2.	Escarre.	Escarre.
<i>R. gibsoni</i>	Mort en 1 j. 1/2.	Mort en 5 jours.	Petite escarre.
<i>R. gibsoni coccineus</i>	Mort en 2 jours.	Escarre.	Petite escarre.
<i>R. gibsoni mirabilis</i>	Mort en 1 j. 1/2.	Escarre.	Petite escarre.
<i>R. philippinensis purpureus</i>	Mort en 1 j. 1/2.	Escarre.	Petite escarre.
				Mort en 3 j. 1/2.

RECHERCHE ET TITRAGE DE L'AGGLUTININE.

Nous avons recherché et titré comparativement la propriété agglutinante de l'extrait aqueux des différentes graines sur les hématies de lapin lavées à l'eau physiologique. De petits tubes, contenant chacun 1 cent. cube d'une émulsion à 5 p. 100 de ces hématies dans l'eau physiologique, recevaient, sous le volume de 1 cent. cube, des dilutions de l'extrait aqueux des graines correspondant respectivement à 1/10, 1/100, 1/1.000, 1/10.000, 1/100.000 de cent. cube du liquide primitif. On abandonnait pendant 24 heures à la température ordinaire. Avec toutes les graines examinées les résultats observés pour les différentes dilutions ont été sensiblement les mêmes, à savoir :

Pour 1/10 de cent. cube, agglutination très rapide et totale ; en moins d'une heure, un coagulum dense se déposait au fond des tubes.

Pour 1/100 de cent. cube, agglutination rapide et totale ; coagulum dense formé dans la journée.

Pour 1/1.000 de cent. cube, agglutination lente ; le lendemain, coagulum fragile.

Pour 1/10.000 de cent. cube, rien le jour même ; le lendemain, trace d'agglutination dans quelques cas seulement.

En résumé, *les 21 sortes de graines de ricin renferment l'agglutinine spécifique ; leur teneur est sensiblement la même ; 1/1.000 de cent. cube de leur extrait aqueux à 50 p. 100 agglutine encore 1 cent. cube d'hématies de lapin, dans nos conditions expérimentales.*

Nous sommes donc amené à conclure que la présence, dans les graines, de la toxine et de l'agglutinine, en quantité sensiblement constante pour un même poids de substance végétale, doit être considérée, jusqu'à nouvel ordre, comme une propriété fixe du genre Ricin.

Le Gérant : G. MASSON.